

Aus dem Universitätsklinikum Ulm  
Klinik für Neurologie  
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. A. C. Ludolph

SOD1-Mutationen bei der familiären ALS in  
Deutschland  
Häufigkeit und Relevanz von SOD1-Mutationen  
und anderen pathogenetisch relevanten Genveränderungen

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
der  
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT  
der Universität Ulm

vorgelegt von  
Malessa Irina Rabe  
aus Bremen

2009

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Thomas Wirth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. A. Ludolph

2. Berichterstatter: Prof. Dr. P. Steinbach

Tag der Promotion: 16.12.2010

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	III
<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Klinisches Spektrum der Motoneuronerkrankungen	1
1.2 Epidemiologie, Diagnose, Verlauf und Einteilung	2
1.2.1 Epidemiologie	2
1.2.2 Diagnose	3
1.2.3 Verlauf	4
1.2.4 Einteilung	5
1.3 Mutationen	5
1.4 Therapie	12
1.5 Zielsetzung	14
<b>2. Material und Methodik</b>	<b>15</b>
2.1 Übersicht	15
2.2 Einschlusskriterien	15
2.3 Patientendaten	16
2.3.1 Erhebung der Daten	16
2.3.2 Kriterien für die Auswahl der exemplarischen Familien	16
2.4 Superoxid Dismutase 1 (SOD1)- Diagnostik	17
2.4.1 PCR	17
2.4.2 Sequenzierung	18
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>19</b>
3.1 Exemplarische detaillierte Beschreibung von Familien mit Stammbaum	19
3.1.1 Familie Nr. 1	19
3.1.1.1 Patientin III:11	20
3.1.1.2 Patientin III:2	21
3.1.2 Familie Nr. 2	22
3.1.2.1 Patientin III:4	23
3.1.2.2 Patientin III:2	23

3.1.3 Familie Nr.3	25
3.1.3.1 Patientin IV:5	26
3.1.3.2 Patientin III:7	26
3.1.4 Familie Nr.4	28
3.1.4.1 Patientin VI:23	29
3.2 Ergebnisse einer Auswertung der Datenbank	30
3.2.1 Ergebnisse der Exploration des familiären Erbganges	30
3.2.2 Ergebnisse der SOD1-Diagnostik	30
3.2.2.1 Häufigkeit der SOD1-Mutation	30
3.2.2.2 Art der SOD1-Mutation	31
3.2.3 Ergebnisse anderer genetischer Untersuchungen	34
3.2.3.1 Angiogenin und VEGF	34
3.2.3.2 Dynactin	34
3.2.3.3 TDP-43	35
3.2.3.4 Senataxin und FUS/TLS	35
<b>4. Diskussion</b>	<b>36</b>
4.1 Übersicht der Ergebnisse	36
4.2 Erläuterung der Ergebnisse	37
4.2.1 Die Bedeutung der SOD1-Mutation für die familiäre Amyotrophe Lateralsklerose	37
4.2.2 Relevanz der SOD1-Mutation	38
4.2.3 Epidemiologische Verteilung der SOD1-Mutation	39
4.2.4 Mögliche Fehlerquellen	39
4.2.5 Andere Genveränderungen	40
4.2.6 Schlussfolgerung	43
<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>45</b>
<b>6. Literaturverzeichnis</b>	<b>46</b>
<b>7. Danksagung</b>	<b>56</b>

# Abkürzungsverzeichnis

ALS	Amyotrophe Lateralsklerose
AER	Armeigenreflex
BER	Beineigenreflex
BFA	Benigne Fokale Amyotrophie
COX1	Zyklooxigenase 1
DCTN1	Dynactin
EMG	Elektromyographie
fALS	Familiäre Amyotrophe Lateralsklerose
FTD	Frontotemporale Demenz
FUS/TLS	fused in sarcoma/translated in liposarcoma
HMN	Hereditäre Motorische Neuropathie
HSP	Hereditäre Spastische Paraparese
IARS2	Mitochondriale Isoleucin tRNA Synthetase 2
MAPT	Mikrotubuli-assoziiertes Protein Tau
PBP	Progressive Bulbäre Paralyse
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PEG	Perkutane Endoskopische Gastrostomie
PLS	Primäre Lateralsklerose
PMA	Progressive Muskuläre Atrophie
PSR	Patellarsehnenreflex
sALS	Sporadische Amyotrophe Lateralsklerose
SBMA	Spinobulbäre Muskelatrophie
SMA	Spinale Muskelatrophie
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SOD1	Superoxid Dismutase 1
TDP-43,	
TARDBP	transactivation response DNA-binding protein 43
VAMP	vesicle-associated membran protein
VAPB	vesicle-associated membrane protein/synaptobrevin-associated membrane protein B
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

WFN

World Federation of Neurology

# 1. Einleitung

## 1.1 Klinisches Spektrum der Motoneuronerkrankungen

Die Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist die häufigste Motoneuronerkrankung und gehört zu der Gruppe der Neurodegenerativen Erkrankungen. In dieser Gruppe stellt die ALS nach Morbus Alzheimer, der Frontotemporalen Demenz (FTD) und Morbus Parkinson, die vierthäufigste Erkrankung dar [7].

Motoneuronerkrankungen können in drei Kategorien eingeteilt werden. Diese Unterteilung erfolgt danach, ob das 2. Motoneuron, das 1. Motoneuron oder beide Motoneuronen betroffen sind. Bei der Spinalen Muskelatrophie (SMA) und der Spinobulbären Muskelatrophie (SBMA oder Kennedy Syndrom) ist vorwiegend das 2. Motoneuron betroffen. Bei der Primären Lateralsklerose (PLS) und der Hereditären Spastischen Paraparese (HSP) ist vorwiegend das 1. Motoneuron betroffen. Ein Befall sowohl des 1. also auch des 2. Motoneurons findet sich bei der ALS [36].

Die ALS ist zwar die häufigste Motoneuronerkrankung, tritt aber im Gegensatz zu den anderen sehr vielseitig in Erscheinung. Es gibt viele Subtypen der ALS mit unterschiedlichen Krankheitssymptomen. Die klassische Beschreibung der ALS ist der initial asymmetrische distale Befall einer Extremität mit Beteiligung des 1. und 2. Motoneurons. Beginnen die Symptome in der bulbären Muskulatur, spricht man von der Progressiven Bulbären Paralyse (PBP). Die Progressive Muskuläre Atrophie (PMA) äußert sich durch einen Befall des 2. Motoneurons und betrifft den Rumpf und die Extremitäten. Auch die Primäre Lateralsklerose (PLS) kann als Subtyp der ALS angesehen werden. Bei der PLS können genau wie bei der PBP und der PMA im späten Krankheitsverlauf beide Motoneuronen betroffen sein. Es gibt dennoch Subtypen der PMA, PLS und PBP, die die ganze Zeit auf ein Motoneuron beschränkt bleiben. Dies tritt jedoch bei der PBP selten auf. Es werden wenige Fälle der Benigen Fokalen Amyotrophie (BFA) beschrieben, bei der die Symptome über Jahrzehnte auf eine oder zwei Extremitäten beschränkt bleiben. Die klinische Heterogenität der ALS macht es oft schwer, die Krankheit früh zu diagnostizieren. Selbst in spezialisierten Zentren erhalten 5-8% der an ALS Erkrankten eine andere Diagnose [33].

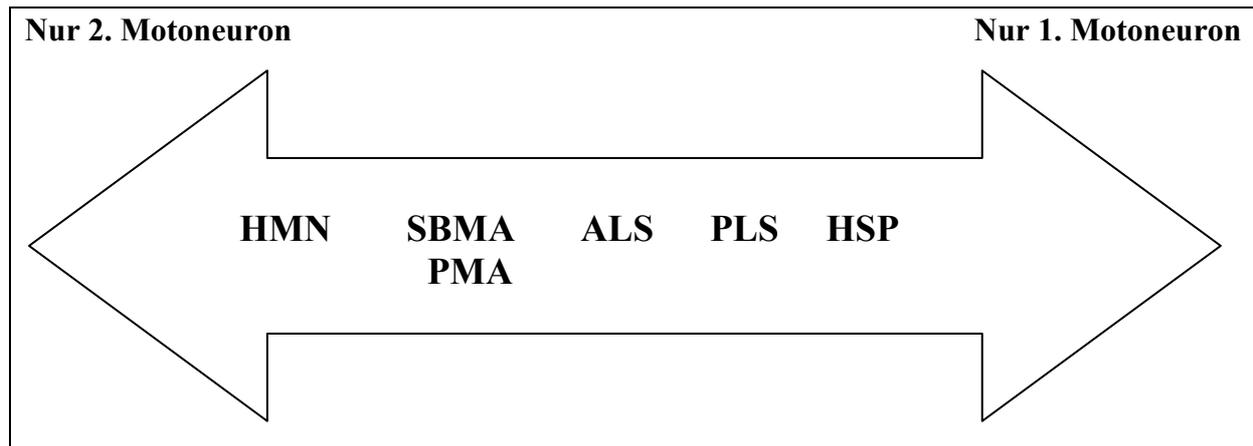


Abbildung 1:

**Verteilung der Motoneuronerkrankungen nach vorwiegender Betroffenheit des 1. oder 2. Motoneurons.**

HMN: Hereditäre Motorische Neuropathie, SBMA: Spinobulbäre Muskelatrophie, PMA: Progressive Muskuläre Atrophie, ALS: Amyotrophe Lateralsklerose, PLS: Primäre Lateralsklerose, HSP: Hereditäre Spastische Paraparese

## 1.2 Epidemiologie, Diagnose, Verlauf und Einteilung

### 1.2.1 Epidemiologie

Die ALS wurde 1869 als Erstes umfassend von dem französischen Neurologen Jean-Martin Charcot beschrieben, der der Erkrankung aufgrund seiner Entdeckung der Muskelatrophie und der Sklerosierung der Seitenstränge des Rückenmarks den Namen „Amyotrophe Lateralsklerose“ gab [24]. Auch wenn das Krankheitsbild schon Mitte des 19. Jahrhunderts unter anderem von Aran und Bell beschrieben wurde, gilt Charcot als Erstbeschreiber. Die ALS wird deshalb auch als „Charcot-Krankheit“ bezeichnet [111].

Die Inzidenz der ALS beträgt 1-2/100.000 [89]. Die bisher einzige prospektive Studie über die Inzidenz der ALS aus Rochester, Minnesota, USA, zeigt, dass die Inzidenz mit 1,7/100.000 zwischen 1925 und 1998 konstant war [103]. Andere Studien, die nicht populationsbezogen waren, zeigten einen Anstieg der ALS Inzidenz im Laufe der Jahre [58]. Der Inzidenzanstieg könnte jedoch auch auf einer verbesserten Diagnostik und einer besseren Erfassung der Erkrankung basieren. Die Prävalenz der Erkrankung beträgt 4-6/100.000. Damit beträgt das Lebenszeitrisiko, an ALS zu erkranken, 1/600-1/1000. Die einzigen bewiesenen Risikofaktoren sind das männliches Geschlecht, das Alter und bei der familiären Form die Erbanlagen [30, 89]. Bei der sporadischen Form der ALS werden toxische Umweltfaktoren diskutiert [72]. Es gibt zwei Fall-Kontroll-Studien, die aufzeigen, dass

Raucher ein höheres Risiko haben, an ALS zu erkranken [59, 79]. Die Zunahme der Inzidenz bei Frauen in den letzten Jahren könnte durch ihren erhöhten Zigarettenkonsum erklärt werden [70].

Das Alter bei Ausbruch einer ALS mit einer SOD1-Mutation beträgt 46,9 +/- 12,5 Jahre. Die familiäre Form der ALS ohne SOD1-Mutation liegt mit 50,5 +/- 11,5 Jahren leicht darüber. Das durchschnittliche Erkrankungsalter bei der sporadischen ALS liegt bei 58,2 +/- 13,3 Jahren [7].

Es ist anzunehmen, dass andere Gene sowie Umweltfaktoren Einfluss auf die Krankheitsentstehung nehmen.

Geographische Unterschiede in der Inzidenz der Erkrankung betragen jedoch nur 1-2/100.000 Einwohnern je Land [45, 73, 77, 78].

### 1.2.2 Diagnose

Bei der ALS kommt es zur progressiven degenerativen Zerstörung des 1. Motoneurons im Motorkortex und des 2. Motoneurons im Hirnstamm und Rückenmark. Zeichen der Dysfunktion des 2. Motoneurons sind Muskelatrophien, Krämpfe und Faszikulationen und der des 1. Motoneurons Spastizität und pathologische Reflexe. Die Augenmuskulatur und der Harnblasensphinkter sind normalerweise nicht betroffen.

Die Diagnosekriterien der ALS sind als „El Escorial-Kriterien“ international standardisiert. Die Erkrankung kann erst diagnostiziert werden, wenn andere Ursachen ausgeschlossen sind. Man unterscheidet zwischen sicherer, wahrscheinlicher, möglicher und auf Verdacht basierender ALS.

Tabelle 1

**Die El Escorial-Kriterien der World Federation of Neurology (WFN).**

ALS = Amyotrophe Lateralsklerose, EMG = Elektromyographie

<b>El Escorial-Kriterien</b>	<b>Beschreibung</b>
Definitive/sichere ALS	Schädigungszeichen des 1. und 2. Motoneurons in 3 von 4 Regionen (bulbär, zervikal, thorakal, lumbosakral)
Wahrscheinliche ALS	Schädigungszeichen des 1. und 2. Motoneurons in 2 von 4 Regionen, wobei die Schädigungszeichen des 1. Motoneurons rostral der Schädigung des 2. Motoneurons liegen müssen.
Wahrscheinliche, laborunterstützte ALS	Schädigungszeichen des 1. und 2. Motoneurons in einer von 4 Regionen (oder nur das 1. Motoneuron in einer Region) und Denervierungszeichen im EMG in mindestens zwei Extremitäten
Mögliche ALS	Schädigungszeichen des 1. und 2. Motoneurons in einer von 4 Regionen
Die Diagnose einer ALS erfordert das Vorhandensein von:	Zeichen der Läsion des 1. Motoneurons Zeichen der Läsion des 2. Motoneurons (inklusive EMG-Veränderungen in klinisch nicht betroffenen Muskeln) Progredienz
Die Diagnose einer ALS erfordert das Fehlen von:	Gefühlsstörungen, Sphinkterstörungen, Sehstörungen, Autonome Dysfunktion Parkinson-Syndrom, Alzheimer-Demenz oder Syndromen, die der ALS ähnlich sind
Die Diagnose einer ALS wird gestützt durch:	Faszikulationen in einer oder mehreren Regionen, Neurogene Veränderungen im EMG, Normale motorische und sensible Nervenleitgeschwindigkeiten, Fehlen von Leitungsblöcken

### 1.2.3 Verlauf

Die Erkrankung bricht typischerweise im Erwachsenenalter aus. Die Symptomatik beginnt mit einer Schwäche in den Armen oder Beinen, die letztlich zu einer vollständigen Parese fortschreitet. Durch Beteiligung der Atemmuskulatur kommt es meist innerhalb von 5 Jahren nach Ausbruch zum Tod. Auch wenn die Erkrankung primär die Motoneuronen betrifft, kann es bei 20-40% der Patienten durch eine Schädigung des Frontal- bzw. Temporalhirns zu kognitiven Dysfunktionen kommen. 3-5% der Patienten entwickeln eine Demenz vom Frontotemporalen Typ (FTD) [2]. Sowohl die ALS Patienten als auch die FTD Patienten weisen in pathologischen Untersuchungen zu 90% Ubiquitin Einschlusskörperchen mit dem TDP-43 in dem Perikaryon der Motoneuronen auf [80, 110].

## 1.2.4 Einteilung

Bei 90-95% der ALS Fälle ist die Familienanamnese unauffällig. Diese werden als sporadische ALS (sALS) bezeichnet. In 5-10% der Fälle gibt es ein familiär gehäuftes Vorkommen. Sie werden familiäre ALS (fALS) genannt. Der Erbgang ist meistens autosomal-dominant, es kommen jedoch auch autosomal-rezessive Erbgänge vor.

Bei 12-23,5% der fALS finden sich Mutationen im Gen der Kupfer-Zink-Superoxid Dismutase 1 (SOD1) auf Chromosom 21 [7]. Die Zahlen variieren teilweise erheblich (12% in Deutschland [82], 14,3% in Frankreich [15], 18% in Italien [10], 18% in Spanien [38], 19,7% bzw. 21% in Großbritannien [85, 100], 23,5% in den USA [30], 23,5% in Skandinavien). Bei der sALS wird in 0-7,3% der Fälle eine SOD1-Mutation beschrieben [7]. Auch hier variieren die Zahlen (0% in Italien [10], 1,2% in Spanien [38], 3% in England [53], 3% in der UK [100], 4% in Skandinavien [5], 6% in Italien [40], 7% in Schottland [55], 7,3% in Italien (2005) [7]). Fragwürdig ist, ob es sich bei diesen 0-7,3% nicht auch um unerkannte fALS Fälle handeln könnte, da in der Literatur gelegentlich fALS Patienten als sporadische Fälle fehldiagnostiziert wurden [7].

## 1.3 Mutationen

### **ALS1 (Kupfer-Zink-Superoxid Dismutase 1 (SOD1))**

SOD1 ist auf dem Chromosom 21q22.1 lokalisiert und wurde erstmals 1993 von Rosen et al beschrieben [95]. Das Gen besteht aus 5 Exons und 4 Introns. Die 5 Exons kodieren ein Polypeptid aus 153 Aminosäuren. Jede Untereinheit enthält je ein stabilisierendes Zinkion und katalysierendes Kupferion. Die SOD1 findet sich hauptsächlich im Zytosol, kann jedoch auch im Intermembranraum der Mitochondrien und im Zellkern vorkommen [69, 88]. Die primäre Funktion der SOD1 ist die eines Antioxidans. Durch die SOD1 werden Superoxide, freie Radikale, zu Wasserstoffperoxid reduziert und durch die Glutathionperoxidase weiter in Wasser umgewandelt. Superoxide sind sehr aggressiv und beeinträchtigt die Funktion von Zellmembranen, Proteinen und DNA. Durch die SOD1-Mutation kommt es zu einem Untergang der Motoneuronen. Der Molekularmechanismus, über den die SOD1-Mutation die Erkrankung hervorruft, ist noch immer unbekannt. Es gibt bereits viele verschiedene Theorien, bisher konnte jedoch noch keine bestätigt werden [3, 12, 13, 48, 68]. Spekuliert wird zum einen eine Überaktivität und zum anderen eine Verminderung der Enzymaktivität durch die SOD1-Mutation. Ein Funktionsgewinn des Enzyms könnte zu einer

Proteinaggregation und/oder einer spezifischen Proteinzytotoxizität führen und damit den Untergang der Motoneuronen bewirken [7, 27, 92]. Das mutierte SOD1 interagiert spezifisch mit den Neurofilamenten (Leichte-Ketten mRNA) und dem Dynein/Dynactin-Komplex. Angenommen wird, dass es durch die verstärkte Zytotoxizität zu Zytoskelettdefekten und axonalen Transportstörungen kommt [7, 21]. Ein Biomarker auf Proteinebene für durch SOD1-Mutation hervorgerufene ALS ist bisher nicht bekannt.

Insgesamt sind über 130 Mutationen beschrieben, von denen 119 Mutationen mit der ALS in Verbindung stehen [7]. Viele der Mutationen sind jedoch nur ein- bis zweimal beschrieben worden, sodass die Relevanz in Frage gestellt werden muss. Es gibt viele verschiedene Studien, die die Pathogenität der SOD1-Mutationen beschreiben. Basierend auf Kopplungsanalysen, können strenggenommen nur 18 der über 130 Mutationen als sicher pathogen bezeichnet werden. Wird eine populationsgenetische Studie als Grundlage angewendet, können 21 SOD1-Mutationen als pathogen bezeichnet werden. Eine populationsgenetische Studie bedeutet, dass es entweder sehr viele ALS Patienten mit der gleichen Mutation in einer großen Population gibt oder die gleiche Mutation in verschiedenen Populationen auftritt und bei nicht Erkrankten größtenteils nicht vorkommt.

Es können alle Exons betroffen sein, am häufigsten findet sich aber eine Mutation auf dem Exon 4 und 5 [7]. Die frühere Annahme, dass eine Mutation auf dem Exon 3 eine benigne Verlaufsform hat, wurde widerlegt [100].

Wenn in einem Codon des SOD1-Gens mehrere Mutationen vorkommen, werden diese als pathogen angesehen ("hot spot evidence"). Acht Codons des SOD1-Gens enthalten drei oder mehr Missense-Mutationen (erhaltener Leserahmen) von insgesamt 30 Mutationen. Zehn Mutationen verursachen in transgenen Mäusen den Phänotyp einer Motoneuronerkrankung [7].

Die weltweit häufigste Mutation ist die D90A. Im Gegensatz zu fast allen anderen Mutationen, die dominant sind, ist die D90A in den meisten Fällen autosomal-rezessiv vererbbar [22, 47, 56]. Im homozygoten Zustand produziert das D90A-Allel eine Form der ALS mit initial leichten Rücken-, Hüft- oder Knieschmerzen, Muskelkrämpfen und Steifheit in den Beinen für Monate oder Jahre. Später kommt es zu Paresen in einem Bein, die sich langsam ausbreiten. Das EMG kann normale Befunde zeigen. Es zeigt sich eine distale Areflexie und eine proximale Hyperreflexie. Durch die Ausbreitung der Schwäche nach proximal verschwinden die Reflexe schließlich auch dort. Der Patient kann noch ohne Hilfe laufen und hat eine geringgradige Muskelatrophie. Nach 4-5 Jahren entwickelt der Patient

eine Paraparese. Die Muskeigenreflexe (MER) der unteren Extremität fehlen und die der oberen Extremität sind gesteigert. Es kommt weiter zu bulbären Symptomen und Faszikulationen in allen vier Extremitäten. In über 30 Fällen mit homozygoten D90A-Mutationen sind die Zeichen des 1. Motoneurons zuerst stärker als die des 2. ausgeprägt. Später dominiert die Symptomatik des 2. Motoneurons [7]. Die Patienten haben für gewöhnlich eine lange Überlebenszeit von 14 Jahren und weisen atypische Symptome wie starke Schmerzen, Ataxie, Miktionsbeschwerden und Hitzewallungen auf [7]. In einzelnen Fällen sind auch Krankheitssymptome bei heterozygoten Fällen beschrieben. Die Symptome können an jedem Körperteil beginnen und die Erkrankung äußert sich durch eine rasche Progression, die der Verlaufsform der sporadischen ALS ähnelt [87].

Eine weitere häufige SOD1-Mutation ist die Mutation A4V. Sie ist besonders häufig in den USA, kommt in Deutschland jedoch nach bisherigem Kenntnisstand gar nicht vor [30]. Der plötzliche Ausbruch der Erkrankung äußert sich durch Zeichen des 2. Motoneurons in den Extremitäten, dem Rumpf und den bulbär innervierten Muskeln. Es kommt zu einer raschen Progression und die Überlebenszeit beträgt nur 1-2 Jahre.

Die dritthäufigste Mutation ist die Mutation I113T. Sie kommt besonders in Großbritannien vor. Der Beginn ist spinal oder bulbär mit langsamer oder schneller Progression. Atypische Symptome fehlen.

Die häufigste SOD1-Mutation in Deutschland ist die Mutation R115G. Sie wurde bisher in keiner anderen Population beschrieben [62, 82].

Eine der ersten beschriebenen Mutationen ist die Mutation E100K. Es kommt zu einer GAA zu AAA DNA Transition im Codon 100 [102] und es folgt eine Substitution von Glutamat durch Lysin im Codon 100. Diese Mutation wurde in einer sehr großen afroamerikanischen Familie erstbeschrieben, in der 36 Familienmitglieder erkrankt waren. Der Krankheitsverlauf der ALS hatte eine ungewöhnlich langsame Progression und die mittlere Überlebenszeit betrug 20 Jahre [39].

Neben SOD1-Mutationen gibt es noch andere krankheitsverursachende Genveränderungen, die jedoch bisher nur in einzelnen Fällen nachgewiesen wurden (siehe Tabelle).

Tabelle 2

**Beschriebene Genveränderungen bei der ALS.**

ALS=Amyotrophe Lateralsklerose, AD=autosomal-dominant, AR=autosomal-rezessiv, SOD1=Superoxid Dismutase 1, ub=Mutation ist unbekannt, FUS/TLS=fused in sarcoma/translated in liposarcoma, TDP-43=TAR DNA-bindendes Protein 1, VAPB=vesicle-associated membrane protein/synaptobrevin-associated membran protein B, FTD=Frontotemporale Demenz, MAPT=Mikrotubulin-assoziiertes Protein Tau, VEGF=Vascular endothelial growth factor, Xzen=Zentromer auf dem X-Chromosom, XD=X-chromosomal-dominant, COX1=Zyklusoxigenase 1, mtDNA=mitochondriale DNA, IARS2=Mitochondriale Isoleucin tRNA Synthetase 2

Erkrankung	Gen	Locus	Erbgang	Funktion	Klinik	Literatur
<b>Typische ALS</b>						
ALS1	SOD1	21q22.1	AD, AR	Superoxid Dismutase	Beginn im Erwachsenenalter	[95]
ALS3	ub	18q21	AD		Beginn im Erwachsenenalter	[48]
ALS6	FUS/TLS	16q11.2-q12	AD, AR		Beginn im Erwachsenenalter	[1, 64, 96, 99, 110]
ALS7	ub	20p13	AD		Beginn im Erwachsenenalter	[99]
ALS10	TDP-43	1p36.22	AD		Beginn im Erwachsenenalter	[41, 44, 57, 80, 94, 105, 109]
<b>Atypische ALS</b>						
ALS8	VAPB	20q13	AD	Endosomales Membran Protein	Meistens atypische ALS mit Tremor Beginn im Erwachsenenalter	[83]
ALS	Dynactin	2q13	AD	Axonaler Transport	Beginn im Erwachsenenalter Langsam progressiv Frühe Paralyse der Stimmbänder Atrophie und Schwäche der Hand- und Gesichtsmuskulatur	[91]
<b>ALS mit Demenz</b>						
ALS-FTD	ub	9p21-22	AD		ALS mit FTD und Morbus Parkinson Beginn im Erwachsenenalter	[50, 86]
ALS-FTDP	MAPT	17q21-22	AD		ALS mit FTD Beginn im Erwachsenenalter	[26, 51]
<b>Andere</b>						
ALS2	Alsin	2q33	AR	Guanin Austausch Faktor	Juveniler Beginn Langsam progressiv Kortikospinal	[46, 49, 112, 113]

Erkrankung	Gen	Locus	Erbgang	Funktion	Klinik	Literatur
ALS4	Senataxin	9q34	AD	DNA/RNA Helikase	Juveniler Beginn Langsam progressiv	[23, 25]
ALS9	Angiogenin	14q11	AD	RNase	Pathogenität noch unklar	[43]
ALS	VEGF	6p21.5			Pathogenität noch unklar	[35, 66, 67, 84]
ALS5	ub	15q15.1- q21.1	AR		Juveniler Beginn Langsam progressiv	[49]
ALS-X	ub	Xzen	XD		Typische ALS	[89]
ALS-M	COX1	mtDNA	Mütterlich		Einzelner Fall Korticospinal	[28]
ALS-M	IARS2	mtDNA	Mütterlich		Einzelner Fall 2. Motoneuron	[14]

### **ALS2 (Alsin)**

Diese seltene juvenile autosomal-rezessiv vererbare Form der ALS mit langsamer Progression weist eine Deletion im Alsin-Gen, ein GTPase Regulator, auf und führt dadurch zur Verkürzung und Funktionsstörung des Proteins. Es besteht aus 34 Exons und 33 Introns.

### **ALS4 (Senataxin)**

Durch Missense-Mutation (Austausch eines Basenpaares an 1. oder 2. Stelle eines kodierenden Triplets) des Senataxin kommt es zu einer autosomal-dominant vererbaren Form der ALS mit sehr langsamem Krankheitsverlauf und juvenilem Beginn. Es treten distale Muskelschwächen, Atrophie sowie Pyramidenbahnzeichen auf. Die Sensibilität ist unverändert und die Lebenserwartung normal [25].

### **ALS8 (VAPB)**

Die durch die autosomal-dominant vererbare Mutation des VAPB (vesicle-associated membrane protein/synaptobrevin-associated membran protein B) verursachte ALS beginnt im Erwachsenenalter und verläuft langsam mit atypischen Symptomen wie Tremor. Das VAMP (vesicle-associated membran protein)-assoziierte Protein reguliert den Vesikeltransport. Beschrieben wurde diese Mutation 2004 von Nishimura et al [83].

### **Dynactin**

Die Punktmutationen der p150 Untereinheit des am retrograden axonalen Transport beteiligten Proteins Dynactin (DCTN1) wurden erstmals 2003 als Risikofaktor für ALS

beschrieben [91].

Die autosomal-dominant vererbaren Mutationen scheinen die Bindung des Dynein/Dynactin-Komplexes an die Mikrotubuli zu beeinflussen [89]. Es wird weiterhin intensiv nach weiteren Genveränderungen im Dynactin-Komplex geforscht. Die Klinik äußert sich in einem langsamen Verlauf mit atypischen Symptomen. Die Erkrankung beginnt im Erwachsenenalter und äußert sich häufig zuerst in einer Paralyse der Stimmbänder [89].

### **VEGF**

Eine Veränderung im Gen des Vascular endothelial growth factor (VEGF) wird als Risikofaktor für die ALS angesehen. Bei Mäusen stimuliert VEGF in Stresssituationen das Überleben von Motoneuronen [66]. Bei einer Variante des VEGF-Gens (zwei SNPs, rs699947 und rs1570360 in der Promotor Region und einem einzelnen SNP, rs2010963, an dem 5'UTR Ende) erhöht sich, nachgewiesen in verschiedenen europäischen Populationen, das Risiko an einer ALS zu erkranken um das 1,8-fache [35]. Auch in einer großen Kohorte deutscher sALS-Patienten konnte 2006 eine signifikante Assoziation zwischen einem SNP (rs1570360) in der VEGF Promoter Region und einer Erkrankung an ALS bei Frauen aufgezeigt werden [35]. Eine große Meta-Analyse 2008 konnte jedoch keinen Zusammenhang zwischen den 3 bekannten VEGF-Gen Variationen und ALS bestätigen. Lediglich der VEGF -2578AA Genotyp zeigte eine Korrelation mit der Erkrankung bei Männern [67]. Die Assoziation von Veränderungen des VEGF-Gens mit der Erkrankung ALS erscheint also nicht gesichert.

### **TDP-43**

Bei 90% der ALS-Patienten befindet sich das TAR DNA-bindende Protein (TDP-43) nicht nur im Nukleus, sondern auch als unlösliche ubiquinierte Einschlusskörper im Zytoplasma und Neuriten der degenerierenden Motoneuronen und Gliazellen des Hirnstamms und Rückenmarks [20, 71, 80, 81, 110]. Patienten mit mutiertem TARDBP zeigen eine abnorme Hyperphosphorylierung und Ubiquitination des TDP-43 sowie C-Terminal Fragmente. Die genaue Funktion und der krankheitsauslösende Prozess sind jedoch noch unklar [65]. Es sind bisher 30 dominante Mutationen des TDP-43 identifiziert worden. Bei der familiären ALS sind 14 verschiedene Mutationen, bei sporadischen ALS 15 Mutationen in mehreren Studien beschrieben [41, 57, 63, 105, 109]. Die meisten Mutationen liegen im C-Terminal der Glycinreichen Region. Bis auf die Y374X-Mutation sind alle Missense-Mutationen. Beschrieben wurde die Mutation erstmals 2006 von Arai [8] und Neumann [80]. Eine Korrelation des TDP-43 mit der ALS gilt jedoch bisher nicht weltweit [44]. Viele Studien konnten jedoch

zeigen, dass das mutierte TDP-43 Neurodegeneration auslösen kann [29, 32, 41, 57, 105, 109]. Bei keinem gesunden Probanden, außer denen, die deutlich unter dem Erkrankungsalter einer ALS lagen, konnte eine Mutation im TDP-43 festgestellt werden [65]. Kognitive Defizite wurden nur bei einem Patienten beschrieben [29]. Eine SOD1-Mutation und Abnormalität des TDP-43 scheinen sich gegenseitig auszuschließen [94].

### **Angiogenin (ANG)**

Bei einigen wenigen Patienten wurde eine Angiogenin-Mutation berichtet. 2006 wurden sieben Missense-Mutationen in 15 fALS- und 11 sALS-Patienten in einer irischen und schottischen Population beschrieben [43]. Der Wirkungsmechanismus dieser Genveränderung ist noch unbekannt.

### **FUS/TLS**

Es gibt zwei neue Studien über eine Mutation im Protein FUS/TLS, das genau wie das TDP-43 ein DNA/RNA-bindendes Protein ist. FUS/TLS ist ein 526 Aminosäuren langes Protein und wird von 15 Exons kodiert. Die FUS/TLS-Mutation auf dem Chromosom 16 führt zu einer Degeneration der Motoneuronen und scheint genau wie TARDBP mit einer ALS in Verbindung zu stehen [65].

FUS/TLS hat mit dem TDP-43 große strukturelle und funktionelle Ähnlichkeiten. Beide spielen eine wichtige Rolle in Transkription, RNA-Splicing, RNA-Transport und Translation [18, 54]. FUS/TLS scheint zur Aufrechterhaltung der Genomstruktur beizutragen.

Das Gen befindet sich normalerweise im Nukleus der Neuronen. Bei Patienten mit mutiertem FUS/TLS befindet sich oft normales FUS/TLS im Nukleus vieler Neuronen und Gliazellen, es bilden sich jedoch auch Aggregate von FUS/TLS im Zytoplasma der Neuronen [64, 110]. Zytoplasmatische Einschlüsse von FUS/TLS in den Gliazellen wurden noch nicht berichtet [65]. Proteinaggregate in dem Zytoplasma der Neuronen sowie defekter RNA-Metabolismus scheinen einen wichtigen Stellenwert in dem Pathomechanismus der ALS zu haben.

Sowohl in gesunden Individuen, als auch in ALS-Patienten mit SOD1-Mutation und in sALS-Patienten gibt es keine Akkumulate im Zytoplasma. In ALS-Patienten mit FUS/TLS kommen keine TDP-43 Aggregate vor, sodass der neurodegenerative Prozess durch FUS/TLS-Mutation unabhängig von der TDP-43 Aggregation zu sehen ist [110].

Es sind bisher 14 Mutationen im FUS/TLS in fALS-Patienten identifiziert. Bis auf die autosomal-rezessive Missense-Mutation H517Q sind alle Mutationen dominant. Die meisten Mutationen liegen in den letzten 13 Aminosäuren des Proteins [64, 110]. Die FUS/TLS-

Mutation wird in 4% der fALS beschrieben [65]. Die Patienten entwickeln, genau wie bei einer Mutation im TARDBP, eine klassische ALS. Kognitive Einschränkungen sind bisher nicht berichtet. Der Ausbruch der Erkrankung liegt durchschnittlich bei 44,5 Jahren und die Überlebenszeit ist mit 1-2 Jahren sehr kurz [110].

## 1.4 Therapie

Es gibt keine kausale Therapie der Erkrankung. Die hauptsächliche Behandlung besteht in der supportiven Therapie. Das einzige zugelassene Medikament zur kausalerorientierten Therapie ist Riluzol. Nur bei diesem Medikament konnte ein protektiver Therapieeffekt in drei unabhängigen doppelblinden placebokontrollierten Studien belegt werden [11]. Dieser Therapieeffekt traf jedoch für Patienten über 75 Jahren oder für Patienten im fortgeschrittenen Krankheitsstadium nicht ausreichend zu [74]. Vitamin E hat experimentell einen positiven Effekt auf Funktion und Überleben der Motoneuronen. Eine Hochdosisstudie mit 5000mg Vitamin E zeigte jedoch ebenso wie andere im Tiermodell ebenfalls erfolgversprechende Substanzen am Menschen keinen positiven Effekt [42].

Eine symptomorientierte Therapie soll die Lebensqualität des Patienten verbessern. Zur Verminderung möglicher Schmerzen stehen nichtsedierende Analgetika oder Opioide nach den WHO-Richtlinien zur Verfügung. Durch eine Spontanaktivität der Motoneuronen kann es besonders nachts zu schmerzhaften Krämpfen kommen. Prophylaktisch kann dies mit Chininsulfaten behandelt werden [104]. Neben der Aufklärung, dass es nicht, wie oft vermutet, durch die im Krankheitsverlauf entstehende Dyspnoe zu einem qualvollen Ersticken, sondern einem friedlichen Tod am Ende der Erkrankung kommt, ist eine frühzeitige Behandlung einer möglichen Pneumonie sinnvoll. In der Terminalphase sollte Morphin eingesetzt und eventuell Anxiolytika begleitend verwendet werden.

An Sialorrhö, die häufig eine Pneumonie verursacht, leiden 50% der ALS-Patienten. Sehr effektiv sind die dermale Applikation von Scopolamin-Pflastern und die Injektion von Botulinumtoxin in die Speicheldrüse [17]. Wesentlich günstiger und daher auch häufiger eingesetzt, sind Amitriptylin und Atropinsulfat in Tropfenform. Sie sind jedoch weniger effektiv. Amitriptylin erscheint schon daher sinnvoll, da es gegen die im Folgenden beschriebene Depression und Sialorrhö gleichzeitig eingesetzt werden kann. Eine alternative nichtmedikamentöse Therapie der Sialorrhoe ist die Bestrahlung (7,0-7,5 Gy). Diese sollte jedoch aufgrund von Nebenwirkungen und bei anderen Optionen nicht angewandt werden [37].

Wie schon erwähnt ist neben einer Psychotherapie zur Krankheitsverarbeitung die Therapie mit Amitriptylin sinnvoll. Als dritter positiver Effekt wird eine mögliche positive Beeinflussung einer pseudobulbären Symptomatik beschrieben. Sowohl für Amitriptylin als auch für Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer als mögliche Alternative liegen keine kontrollierten Studien vor [104].

Pathologisches Lachen oder Weinen ist bei ALS-Patienten mit 60% relativ häufig und tritt besonders im Rahmen einer pseudobulbären Symptomatik auf [76]. Einen möglichen Therapieversuch können Amytriptylin oder Fluvoxamin bieten.

Eine wichtige Säule der symptomatischen Therapie ist die Psychotherapie für den Patienten und seine Familie. Selbsthilfegruppen sowie Sterbe- und Trauerbegleitung können eine wichtige Hilfe für den Patienten und sein Umfeld darstellen.

Eine Physiotherapie soll Restfunktionen fördern und Immobilitationsfolgen vorbeugen. Eine Atemtherapie dient der Pneumonieprophylaxe. Die Ergotherapie nimmt einen sehr wichtigen Stellengrad in der Therapie der ALS ein. Es sollen zum einen die motorischen Fähigkeiten aufrechterhalten und zum anderen der Umgang mit alltagsrelevanten Hilfsmitteln und Kommunikationsmitteln geschult werden. Eine logopädische Therapie wirkt der Dysarthrie und Dysphagie entgegen. Eine weitere Verbesserung der Lebensqualität sowie des Langzeitüberlebens bietet die Unterstützung und Aufrechterhaltung einer ausreichenden Ernährung, die in Form einer perkutanen endoskopischen Gastrostomie (PEG) aufrecht erhalten werden kann, sowie die Behandlung der chronischen respiratorischen Insuffizienz [75]. Die chronisch respiratorische Insuffizienz ist die schwerwiegendste Komplikation der ALS [104]. Bei einer Verminderung der Sauerstoffsättigung wird frühzeitig eine nicht invasive Heimbeatmung eingesetzt. Es kommt zu einer Verminderung der alveolären Hypoventilation und zu einer daraus folgenden signifikanten Lebensverlängerung [19]. Patienten mit nur geringer bulbärer Beteiligung profitieren besonders durch den frühen Einsatz [16]. Eine invasive Beatmung, die eine Immobilität verstärkt, die Kommunikationsfähigkeit stark vermindert oder sogar aufhebt und Komplikationen wie die Pneumonie verstärkt, sollte ohne Aufklärung und Einwilligung des Patienten vermieden werden [97].

## 1.5 Zielsetzung

In dieser Arbeit sollen unter allen Patienten, die über einen Zeitraum von 10 Jahren bis heute in der Neurologischen Klinik und Poliklinik der Universität Ulm mit dem Verdacht auf ALS behandelt worden sind, jene mit einer familiären Verlaufsform ausfindig gemacht werden. Es soll zu allen Kontakt aufgenommen werden und anhand von Gesprächen, Aktenrecherche, erneuten Vorstellungen in der Neurologischen Poliklinik und auch durch Besuche bei den Patienten zu Hause geprüft werden, ob sich die Diagnose ALS im Verlauf unter der Beachtung der El Escorial-Kriterien bestätigt hat und ob tatsächlich eine familiäre Form der Erkrankung vorliegt. Anschließend werden mit Hilfe von Angehörigen und behandelnden Ärzten Stammbäume erstellt und der Krankheitsverlauf der Betroffenen beschrieben.

Von jedem Patienten und nach Möglichkeit auch von betroffenen und gesunden Angehörigen werden nach ausführlicher Aufklärung und schriftlichem Einverständnis Blutproben entnommen, um Untersuchungen auf bekannte ALS-verursachende Mutationen vorzunehmen. Ferner wird mit Einverständnis der Patienten und Angehörigen eine DNA-Probe in Form von Lymphoblastenkulturen immortalisiert und für künftige Untersuchungen konserviert.

Alle Patienten und deren Angehörige, bei denen eine familiäre Form der ALS anzunehmen ist, werden auf die SOD1-Mutation getestet und die Häufigkeit und Art der SOD1-Mutation beschrieben. Die Häufigkeit der SOD1-Mutation in unserer Population soll dann mit den Literaturwerten verglichen werden. Auch die Relevanz der SOD1-Mutation wird durch kritische Betrachtung der Korrelation der Mutation zu der Erkrankung ALS innerhalb einer Familie diskutiert. Es soll ferner bei allen, bei denen sicher von einer fALS auszugehen ist, weitere genetische Untersuchungen auf VEGF, Angiogenin, Dynactin, TDP-43, Senataxin und die neue FUS/TLS Mutation vorgenommen werden. Die Häufigkeit dieser Mutation wird ebenfalls dargelegt und den Werten aus der Literatur gegenübergestellt.

Alle Mutationen werden in einer Tabelle veranschaulicht, sodass kosegregierende Mutationen beobachtet und beschrieben werden können.

In dem zweiten Teil der Arbeit sollen 4 Familien exemplarisch detailliert phänotypisch geschildert werden. Der Krankheitsverlauf wird ausführlich aufgezeigt und Stammbäume werden erstellt. Anhand dieser Familien soll das Bild der familiären Amyotrophen Lateralsklerose verdeutlicht werden.

## 2. Material und Methodik

### 2.1 Übersicht

Die Klinik und Poliklinik für Neurologie der Universität Ulm ist seit vielen Jahren als überregionales Zentrum für Motoneuronerkrankungen bekannt. Auf Grund der besonderen Erfahrung im Bereich der häufigsten Motoneuronerkrankung, der ALS, ist die Universität Ulm in Süddeutschland eine angesehene Anlaufstelle für ALS-Patienten. Seit über 10 Jahren werden die Daten von ALS-Patienten gesammelt, sodass eine Datenbank erstellt werden kann, die alle wichtigen Patientendaten erfasst und neben der Diagnostik, Aufklärung und Betreuung von Patienten eine eingehende klinische und experimentelle Forschungsarbeit ermöglicht. Die Datenbank, die ständig aktualisiert wird, beinhaltet neben Daten der betroffenen Patienten auch die Daten nicht betroffener Familienmitglieder, deren eingewilligte Blutuntersuchungen im Rahmen der familiären ALS eine sehr wichtige Rolle spielen. Es kann so über eine Kopplungsanalyse nach krankheitsverursachenden Genen gesucht werden. Insgesamt umfasst die mit dieser Arbeit erstellte Datenbank der familiären ALS über 500 Patienten und Probanden aus ganz Deutschland.

Im Rahmen dieser Dissertation sollen alle Familien, die in den letzten 10 Jahren mit der Diagnose ALS an der Uniklinik Ulm behandelt worden sind, zum einen auf die Diagnose ALS überprüft und zum anderen in sicher familiär, wahrscheinlich familiär und nicht familiär unterteilt werden. Die familiären Fälle sollen sowohl auf die SOD1-Mutation als auch auf weitere bekannte Genveränderungen im Dynactin-, VEGF-, Angiogenin-, TDP-43- und Senataxin-Gen untersucht werden. Weiterhin soll dann der Prozentsatz der Patienten mit SOD1-Mutationen beschrieben und die SOD1-Mutationen ausführlich erläutert werden. Auch die anderen Genveränderungen sollen dargelegt und eventuelle Auffälligkeiten oder kosegregierende Mutationen diskutiert werden. Vier Familien mit sicherer familiärer ALS sollen danach exemplarisch detailliert beschrieben werden.

### 2.2 Einschlusskriterien

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Datenbank mit den Daten familiärer ALS-Familien erstellt. Als Einschlusskriterien galten die Erfüllung einer positiven Familienanamnese und sicherer Erkrankung an der Amyotrophen Lateralsklerose nach den El Escorial-Kriterien.

## 2.3 Patientendaten

### 2.3.1 Erhebung der Daten

Um die Familienanamnese der zu untersuchenden fALS-Patienten zu erheben sowie die Kontaktdaten ausfindig zu machen, wurden zum einen die Aufzeichnungen der Ambulanz der neurologischen Poliklinik der Rehabilitationsklinik Ulm und zum anderen die stationären Akten der Klinik zur Hilfe genommen. Es wurden über 150 Familien zurückhaltend angeschrieben, um eine Kontaktaufnahme zu ermöglichen und so über die Krankheitsfälle und Krankheitsverläufe der betroffenen Familien informiert zu werden. Durch zahlreiche Telefongespräche, E-mail-Kontakte, Schriftverkehr und persönliche Kontakte konnte die Datenbank erstellt werden. Von zahlreichen Betroffenen und nicht Erkrankten konnten nach schriftlichem Einverständnis Blutproben abgenommen werden.

Die ausführliche und detaillierte Beschreibung von vier Familien wurde durch intensive Recherche und engen Kontakt mit den betroffenen Familien ermöglicht.

Die Familien, die sicher familiär betroffen sind und von denen eine Blutprobe vorlag oder entnommen werden konnte, wurden alle auf das Vorliegen von SOD1-Mutationen untersucht. Die Familien wurden außerdem auf Genveränderungen im Dynactin-, TDP-43-, Angiogenin-, Senataxin- und VEGF-Gen untersucht.

### 2.3.2 Kriterien für die Auswahl der exemplarischen Familien

Die vier Familien, die exemplarisch beschrieben werden sollen, wurden nach folgenden Kriterien ausgesucht. Es sollte zum einen eine hohe Zahl an Betroffenen vorliegen und zum anderen sollten möglichst viele Betroffene aktuell an der familiären ALS erkrankt und nicht bereits verstorben sein. Dies ermöglichte direkten Kontakt mit den Betroffenen aufzunehmen, ihren Krankheitsverlauf eingehend zu beschreiben und auch die Veränderungen im Verlauf direkt aufzuzeichnen.

## 2.4 Superoxid Dismutase 1 (SOD1)-Diagnostik

Bei Vorliegen der Diagnose einer familiären ALS wurde im Institut für Humangenetik der Universität Ulm unter der Leitung von Prof. Dr. rer. nat. Peter Steinbach nach ausführlicher Aufklärung von betroffenen und nicht betroffenen Familienmitgliedern eine SOD1-Diagnostik durchgeführt. Neben der SOD1-Mutation wird seit einigen Jahren auch die VAPB-Mutation in diesem Institut getestet. Weitere in Ulm durchgeführte Testungen betreffen die Alsin-Mutation und in Zusammenarbeit mit der Universität Bochum die Senataxin-Mutation. Die VEGF- und Angiogenin-Genveränderung wurde durch die Universität Tübingen getestet, die Untersuchungen auf Dynactin-Genveränderung erfolgten in Kooperation mit der Firma Ingenium in München. TDP-43 wurde in Zusammenarbeit mit dem Zentrum für Neuropathologie und Prionforschung der Ludwig-Maximilians-Universität München untersucht.

Die Blutentnahme kann zu jeder Tageszeit erfolgen und es ist keine Nüchternheit erforderlich. Vor der Entnahme des EDTA-Blutes sind eine ausführliche Aufklärung sowie eine Einverständniserklärung unabdingbar. Es sollte weiterhin vor der Untersuchung abgeklärt werden, ob der Getestete über den Befund der Untersuchung unterrichtet werden möchte oder nicht.

### 2.4.1 PCR

Nachdem die DNA des zu untersuchenden Blutes isoliert worden ist, erfolgt die Polymerase Kettenreaktion (PCR). Bei der PCR wird von der DNA aller 5 Exons und benachbarter Intronabschnitte (5'- und 3'-Spleißstellen) mit Hilfe eines Primers eine Vielzahl von Kopien angefertigt.

#### 1) Denaturierung

Der DNA-Doppelstrang wird unter der Einwirkung einer hohen Temperatur (95 °C) in zwei DNA-Einzelstränge aufgetrennt. Jetzt können die Primer an die DNA binden.

#### 2) Annealing

Bei 54 °C binden die Primer an die DNA-Abschnitte der beiden DNA-Einzelstränge. Die Primer müssen im Überschuss vorhanden sein, damit sich die DNA-Einzelstränge nicht aneinander binden.

#### 3) Extensionsphase

Durch die DNA-Polymerase kommt es bei 72 °C zur Bildung neuer DNA-Stränge.

Die DNA ist in einem Zyklus verdoppelt worden. Ein Zyklus dauert nur wenige Minuten und läuft automatisch mehrmals hintereinander in einem Thermocycler ab.

## 2.4.2 Sequenzierung

Bei der Sequenzierung nach Sanger et al. (1977) [98] wird die DNA-Sequenz, d.h. die Nukleotid-Abfolge in einem DNA-Molekül bestimmt. Bei der Dideoxy- oder Kettenabbruchmethode nach Sanger werden in einen DNA-Strang neben den korrekten Deoxynukleotiden noch „falsche“ Dideoxynukleotide eingebaut, die zu einem Kettenabbruch führen. Die Dideoxynukleotide sind mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert [90]. Durch den Kettenabbruch der Polymerisation entstehen unterschiedlich lange DNA-Fragmente, die elektrophoretisch aufgetrennt werden. Der Sequenzer misst die farbstoffmarkierten Nukleotide automatisch und wertet sie aus. Man erhält eine Buchstabenfolge, die der Basensequenz entspricht. Die Sequenzierreichweite beträgt 250 Basenpaare. Die Direktsequenzierung gilt als Goldstandard für die Mutationsanalyse kleiner Gene mit wenigen Exons [60].

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Exemplarische detaillierte Beschreibung von Familien mit Stammbaum

Aus den in der Datenbank aufgelisteten und erarbeiteten Familien wurden vier Familien detailliert beschrieben. Es werden der individuelle Krankheitsverlauf, das Manifestationsalter und die molekulargenetischen Unterschiede verglichen.

##### 3.1.1 Familie Nr. 1

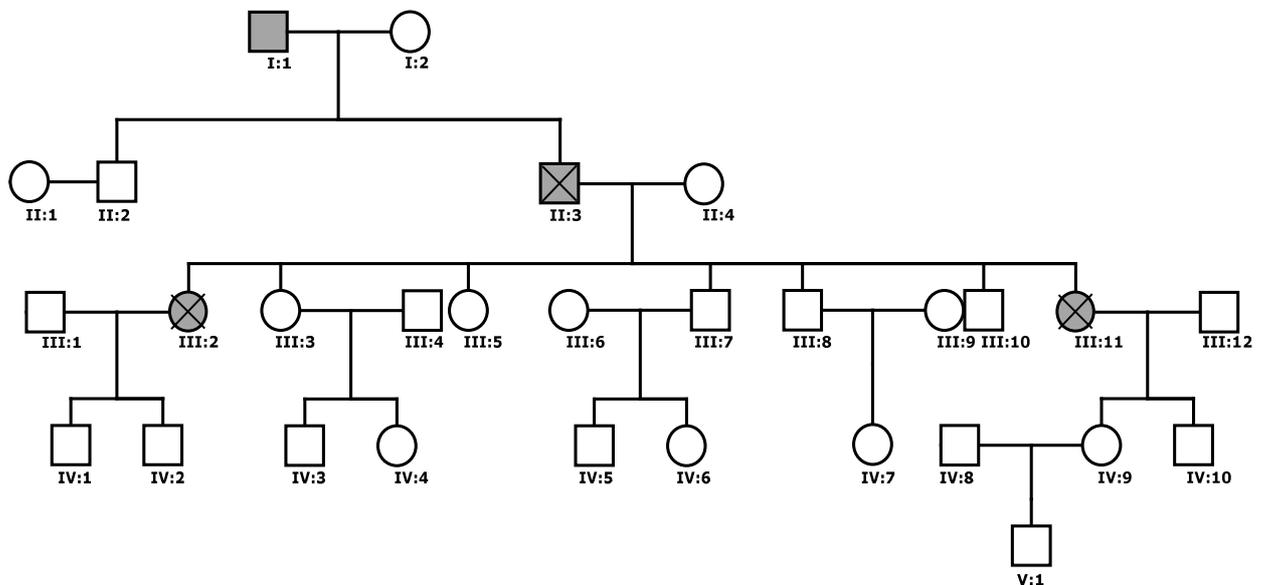


Abbildung 2: Stammbaum der Familie Nr.1

□ = männlich, nicht erkrankt

○ = weiblich, nicht erkrankt

⊠ = männlich, erkrankt

⊙ = weiblich, erkrankt

■ = männlich, wahrscheinlich betroffen

I-V = Generation

1-12 = Individuum

In der Familie Nr. 1 sind mindestens zwei Familienmitglieder sicher an ALS erkrankt.

Aktuell sind zwei Schwestern (III:2, \*1967 und III:11, \*1960) betroffen. Der Vater (II:3) verstarb mit 42 Jahren an einer Herzschwäche bei einer neuromuskulären Erkrankung, die

nicht weiter diagnostiziert wurde. Nach Diagnosestellung verstarb er innerhalb eines Jahres. Der Großvater väterlicherseits (I:1) war rollstuhlpflichtig und verstarb mit 53 Jahren. Bei dem Vater und dem Großvater wurden zu Lebzeiten keine Diagnose einer ALS gestellt, aber auf Grund des geschilderten Verlaufes und der Symptome besteht der dringende Verdacht auf ALS.

Blutproben konnten von beiden Schwestern und ihren Ehemännern gewonnen werden. Von dem Vater und Großvater wurde zu Lebzeiten keine Probe entnommen.

Bei beiden Patientinnen (III:2 und III:11) liegen weder eine SOD1-, noch eine VAPB-, VEGF- oder Angiogenin-Genveränderung vor. Andere Mutationen wurden zum jetzigen Zeitpunkt nicht getestet.

Bei beiden Schwestern liegt eine spinale Verlaufsform der Erkrankung vor. Sie begann bei beiden in der oberen Extremität, die zusammen mit dem Schultergürtel auch im Verlauf den Schwerpunkt der Beschwerden darstellt.

#### 3.1.1.1 Patientin III:11

Die Patientin III:11 erkrankt mit 46 Jahren.

##### Region der Erstsymptomatik

Es entwickelt sich eine zunehmende Muskelschwäche initial im linken Arm und im Verlauf der Erkrankung des linken Beines. Nach einem halben Jahr wird eine ähnliche Symptomatik auch im rechten Arm beobachtet. Neben der Muskelschwäche kommt es zu einer progredienten Muskelatrophie, vor allem im Schultergürtel, in den Oberarmen, der kleinen Handmuskulatur und im linken Oberschenkel. Die Beschwerden betreffen überwiegend die obere Extremität. Infolgedessen ist die Patientin bei täglichen Tätigkeiten, wie Umkleiden, beeinträchtigt. Die Kraft der Hände hat nachgelassen und es bestehen Schulter-Nacken-Verspannungen und Rückenschmerzen. Durch die zunehmende Beinschwäche und Fußheberschwäche hat die Patientin Schwierigkeiten beim Gehen. Außerdem leidet sie zunehmend an Muskelkrämpfen der Extremitäten.

##### Vorwiegendes Motoneuron bei Erstsymptomatik

Es kommt zu rasch progredienten Zeichen der Schädigung des 2. Motoneurons in Form der schlaffen Paresen und einer Muskelatrophie.

##### Vorwiegende Region im Verlauf

Ein Jahr nach Beginn der Erstsymptomatik wird eine pathologische Verlängerung der F-Latenzen an drei von vier Extremitäten diagnostiziert. In der Elektromyographie zeigen sich

pathologische Spontanaktivitäten sowie vergrößerte und teilweise polyphasische Willkürpotentiale und ein gelichtetes Interferenzmuster.

Dominierend ist weiterhin die progrediente Muskelschwäche der oberen und unteren linken Extremität. Durch eine zunehmende Belastungsdyspnoe wird die Lungenfunktion auf 68% reduziert.

#### Vorwiegendes Motoneuron im Verlauf

Neben den Zeichen des 2. Motoneurons zeigt sich nun auch eine Schädigung des 1. Motoneurons in Form von Reflexsteigerung und den entsprechenden elektrophysiologischen Auffälligkeiten. Es liegt keine bulbäre Symptomatik vor.

### 3.1.1.2 Patientin III:2

Die Patientin erkrankt mit 40 Jahren.

#### Region der Erstsymptomatik

Die Symptomatik beginnt bei der Patientin ebenfalls mit einer Schwäche im linken Arm. Etwa fünf Monate später kommt es auch zu einer Schwäche im rechten Arm mit Betonung des Mittelfingers. Des Weiteren leidet die Patientin unter morgendlichen Krämpfen und Muskelzuckungen im Bereich der Schulter, des Unterarmes und der Finger sowie einer Muskelatrophie des Schultergürtels. Es bestehen zusätzlich Schulter-Nacken-Schmerzen.

#### Vorwiegendes Motoneuron bei Erstsymptomatik

Die Erkrankung beginnt mit einer Schädigung des 2. Motoneurons. Diese äußert sich bei der Patientin durch Paresen, Krämpfe und Faszikulationen im Bereich der oberen Extremität und des Schultergürtels.

#### Vorwiegende Region im Verlauf

Auch im Verlauf dominieren die Paresen der oberen Extremität und des Schultergürtels. Sie äußern sich in einer Armelevationsschwäche beidseits sowie einer Schwäche der Fingermuskulatur, die sich in einer empfundenen Steife der Finger zeigt. Es kommt außerdem zu Zungenfibrillationen als Zeichen einer bulbären Beteiligung und zu einer Dyspnoe, die die Patientin in Form einer ausgeprägten Müdigkeit bemerkt.

#### Vorwiegendes Motoneuron im Verlauf

Auch im Verlauf dominieren die Zeichen des 2. Motoneurons sowohl auf bulbärer als auch auf zervikaler Ebene. Zusätzlich kommt es zu Zeichen des 1. Motoneurons auf zervikaler Ebene im Sinne von linksbetont gesteigerten Reflexen in der paretischen Muskulatur.

### 3.1.2 Familie Nr. 2

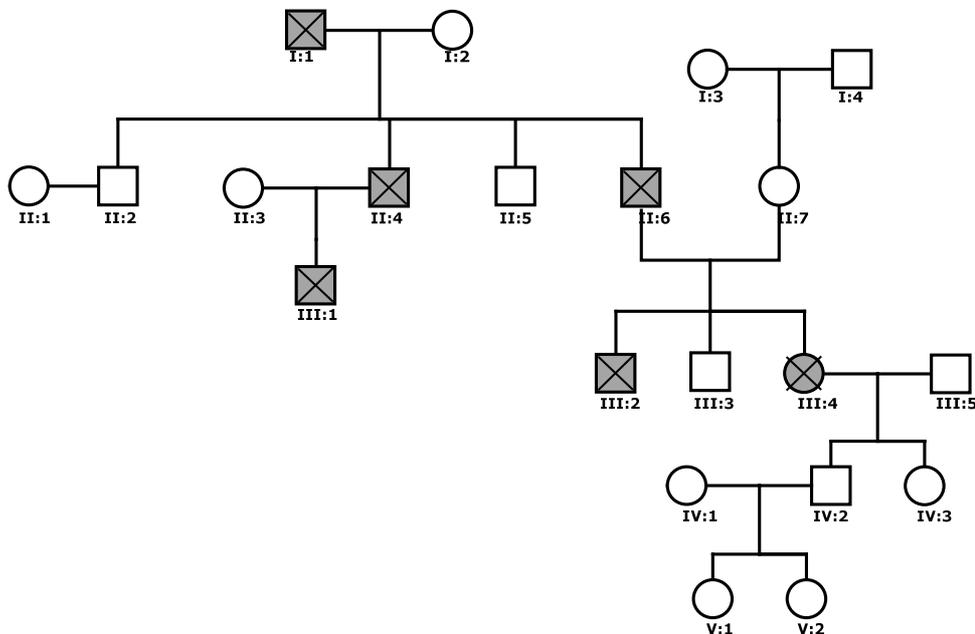


Abbildung 3: Stammbaum der Familie Nr. 2

- |                              |                        |                  |
|------------------------------|------------------------|------------------|
| □ = männlich, nicht erkrankt | ⊠ = männlich, erkrankt | I-V = Generation |
| ○ = weiblich, nicht erkrankt | ⊗ = weiblich, erkrankt | 1-7 = Individuum |

In der Familie Nr. 2 erkranken sieben Familienmitglieder an ALS.

Aktuell sind ein Bruder (III:2, \*1947) und seine Schwester (III:4, \*1950) betroffen. An ALS erkrankten der Vater (II:6) sowie ein Onkel (II:4), ein Cousin (III:1) und der Großvater (I:1). Der Großvater (I:1) erkrankte mit ca. 70 Jahren. Bei beginnender Symptomatik in einer Hand soll er vom Hals an vollständig gelähmt gewesen sein. Er ist mit 78 Jahren gestorben.

Der Cousin (III:1) ist nach einem zehnjährigen Krankheitsverlauf, mit 60 Jahren verstorben, der Vater (II:6) und der Onkel (II:4) (Beginn mit 60 Jahren) sind allerdings beide über 80 geworden.

Bei allen Erkrankten in der Familie kommt es zu einer spinalen Verlaufsform mit langsamer Progredienz. Bei der Patientin III:4 beginnt die Symptomatik in der unteren Extremität,

wohingegen bei dem Patienten III:2 zuerst eine Schwäche der oberen Extremität beobachtet werden kann.

Eine Blutprobe konnte von den Geschwistern (III:2 und III:4) sowie von dem gesunden Bruder (III:3) und seinen Söhnen gewonnen werden. Bei der Patientin III:4 kann keine Genveränderung nachgewiesen werden. Ihr Bruder (III:2) weist eine VEGF-Genveränderung auf.

### 3.1.2.1 Patientin III:4

Die Patientin erkrankt mit 56 Jahren.

#### Region der Erstsymptomatik

Die Symptomatik beginnt mit einer Fußheberparese, Fußstreckerparese und Kniestreckerparese rechts sowie gesteigertem Patellarsehnenreflex (PSR) rechts. Gefolgt wurde diese Symptomatik von Muskelkrämpfen und Faszikulationen der distalen Fußmuskulatur rechts.

#### Vorwiegendes Motoneuron bei Erstsymptomatik

Klinisch-neurologisch zeigen sich Schädigungszeichen des 1. Motoneurons (gesteigerte Reflexe) und des 2. Motoneurons auf mehreren Ebenen (schlaffe Paresen und Faszikulationen).

#### Vorwiegende Region im Verlauf

Bei der Patientin liegt ein langsamer Verlauf der Erkrankung vor. Nach zwei Jahren liegen die Beschwerden noch immer überwiegend im rechten Bein. Verstärkt kommt es jedoch zu Muskelkrämpfen im rechten und gelegentlich auch im linken Bein. Zunehmend treten nun auch Handparesen und Störungen der Feinmotorik beidseits auf.

#### Vorwiegendes Motoneuron im Verlauf

Auch im Verlauf zeigt sich ein Schwerpunkt in der Schädigung des 2. Motoneurons. Die Schädigung des 1. Motoneurons zeigt sich weiterhin durch gesteigerte Reflexe.

### 3.1.2.2 Patient III:2

Der Bruder der Patientin erkrankt ebenfalls mit 56 Jahren. Bei ihm liegt auch ein langsamer Verlauf der Erkrankung vor.

#### Region der Erstsymptomatik

Es zeigen sich distal betonte Paresen des linken Armes mit Atrophien der Unterarm- und Hypothenar-Muskulatur sowie linksbetonte lebhaftere Armeigenreflexe (AER). Zusätzlich

kommt es zu Krämpfen im Bereich der linken Hand, gelegentlich auch im Bereich der rechten Hand und Faszikulationen im Bereich des linken Ober- und Unterarmes.

#### Vorwiegendes Motoneuron bei Erstsymptomatik

Die Erkrankung äußert sich durch eine Affektion des 2. Motoneurons. Eine Beteiligung des 1. Motoneurons kann nur paraklinisch aufgezeigt werden und ist nicht sicher fassbar.

#### Vorwiegende Region im Verlauf

Es dominieren weiterhin die chronisch-progredienten atropen Paresen des linken Armes mit Faszikulationen und einer Verschlechterung der Funktionalität des linken Armes besonders bei feinmotorischen Leistungen. Die gesteigerten AER und Beineigenreflexe (BER) links sowie ein nachweisbares Babinski-Zeichen links weisen auf eine Affektion des 1. Motoneurons.

Nach einem dreijährigen Krankheitsverlauf kommt es jetzt auch zu proximalen und distalen Paresen im Bereich der rechten Armmuskulatur. Es führt zunehmend zu einer Einschränkung der Belastbarkeit. Des Weiteren zeigen sich leichte Hinweise auf eine Beteiligung bulbärer Muskulatur mit diskreter Zungenfibrillation rechts.

Nach dem dreijährigen Verlauf stehen die links und distal betonten, spastisch atropen Paresen der Arme mit Feinmotorikstörungen links, zunehmend auch rechts im Vordergrund. Der Patient ist durch die Diparese und zunehmende Beteiligung der Beine pflegebedürftig. Die bulbäre Muskulatur bereitet keine Beschwerden.

#### Vorwiegendes Motoneuron im Verlauf

Auch wenn durch die progrediente Parese der Arme und zunehmend auch der Beine die Schädigung des 2. Motoneurons im Vordergrund steht, kommt es durch die gesteigerten AER und BER sowie dem positiven Babinski-Zeichen links und der Spastik zu einer zunehmenden Beteiligung des 1. Motoneurons.

### 3.1.3 Familie Nr. 3

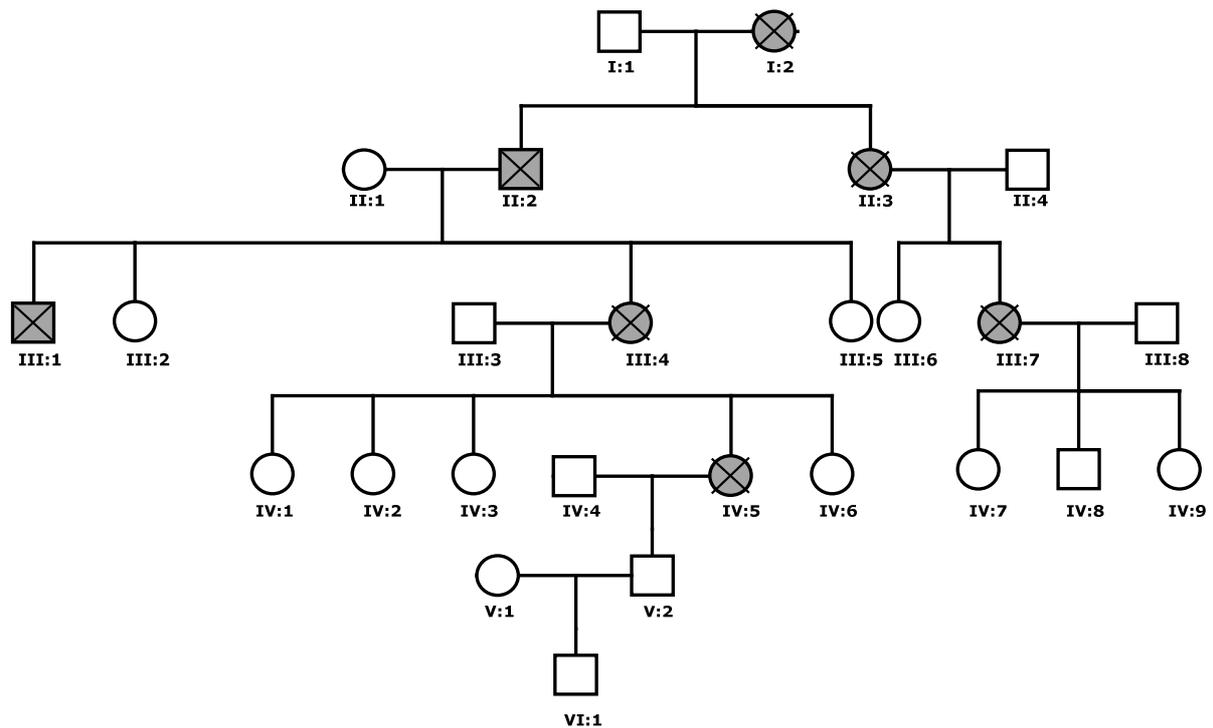


Abbildung 4: Stammbaum der Familie Nr. 3

- |                              |                        |                   |
|------------------------------|------------------------|-------------------|
| □ = männlich, nicht erkrankt | ⊠ = männlich, erkrankt | I-VI = Generation |
| ○ = weiblich, nicht erkrankt | ⊗ = weiblich, erkrankt | 1-9 = Individuum  |

In der Familie Nr. 3 erkrankten sieben Familienmitglieder an ALS. Aktuell sind die Patientin IV:5 (\*1950) an ALS sowie die Cousine ihrer Mutter (III:7, \*1928) fraglich an ALS erkrankt. Des Weiteren erkrankten die Mutter (III:4) der Patientin IV:5, ein Onkel (III:1), der Großvater (II:2) sowie dessen Schwester (II:3) und die Urgroßmutter (I:2) sicher an ALS.

Die Mutter (III:4) erkrankte mit 57 Jahren und verstarb im 62. Lebensjahr. Bei ihr lag eine spinale und bulbäre Symptomatik vor.

Blutproben konnten von der Patientin IV:5 und der Patientin III:7 und zwei ihrer gesunden Kinder (IV:7 und IV:8) gewonnen werden. Bei beiden Patientinnen IV:5 und III:7 konnte keine SOD1- und VAPB-Mutation nachgewiesen werden.

### 3.1.3.1 Patientin IV:5

Die Patientin erkrankt mit 54 Jahren. Die Erkrankung hat eine spinale Verlaufsform mit Beginn in der unteren Extremität.

#### Region der Erstsymptomatik

Die Erkrankung beginnt mit einer Großzehenheberschwäche und Fußheberschwäche rechts und breitet sich langsam über das gesamte Bein aus. An der unteren Extremität sind die Muskeleigenreflexe nur schwach auslösbar.

#### Vorwiegendes Motoneuron bei Erstsymptomatik

Zu Beginn zeigen sich nur Zeichen der Schädigung des 2. Motoneurons. Es kommt zu einer progredienten Parese der rechten unteren Extremität.

#### Vorwiegende Region im Verlauf

Nach einem zweijährigen Verlauf kommt es zu einer Fußheberparese auch im linken Bein. Die Patientin leidet unter zunehmender Paraparese mit Krämpfen und Faszikulationen in den Ober- und Unterschenkeln. Es treten weiterhin eine Parese und Atrophie der Arme und des Rumpfes sowie Störungen der Feinmotorik der Hände auf. Es liegen außerdem Zungenfibrillationen und eine Zungenatrophie vor.

#### Vorwiegendes Motoneuron im Verlauf

Die Beschwerden sind überwiegend in Form der Tetraparese durch das 2. Motoneuron hervorgerufen. Es kommt jedoch auch zu einer Beteiligung des 1. Motoneurons. Dies äußert sich durch nun gesteigerte Muskeleigenreflexe der oberen und unteren Extremität. Auch der Pectoralisreflex rechts ist gesteigert sowie der Trömnerreflex beidseits gut auslösbar. Der Adduktorenreflex ist rechts überspringend. Links finden wir ein positives Pyramidenbahnzeichen.

### 3.1.3.2 Patientin III:7

Die Patientin III:7, die Cousine der Mutter der Patientin IV:5 erkrankt mit 58 Jahren. Auf Grund der bereits über 20 Jahre langen Verlaufsform sowie der bisher fehlenden Symptomatik einer Schädigung des 1. Motoneurons ist bei der Erkrankten ursprünglich von einer Hereditären Motorischen und Sensorischen Neuropathie (HMSN) Typ 2 ausgegangen worden. Auf Grund der deutlich positiven Familienanamnese und der Erkenntnis, dass in dieser Familie mehrere Erkrankte mit langem Verlauf bekannt sind, besteht auch bei dieser Patientin der Verdacht auf das Vorliegen einer ALS.

### Region der Erstsymptomatik

Die Patientin bemerkt zuerst eine Schwäche in den Händen. Zunehmend kommt es auch zu einer proximalen Armparese.

### Vorwiegendes Motoneuron bei Erstsymptomatik

Bei der Patientin III:7 zeigen sich nur Zeichen der Schädigung des 2. Motoneurons.

### Vorwiegende Region im Verlauf

Nach einem siebenjährigen Krankheitsverlauf zeigen sich eine proximale Tetraparese sowie eine distale Fußheberparese. Die Muskeleigenreflexe sind seitengleich nur schwach auslösbar. Es liegt auch eine Schwäche der Schultermuskulatur vor sowie eine Atrophie der betroffenen Muskulatur. Bei der Patientin III:7 ist auch der sensible Schenkel in Form von Sensibilitätsstörungen der Unterschenkel und der Füße sowie einem verminderten Vibrationsempfinden an den Knöcheln betroffen, was zu der Diagnose HMSN Typ 2 führte.

### Vorwiegendes Motoneuron im Verlauf

Nach einem über 20jährigen Krankheitsverlauf liegen bisher keine Symptome einer Schädigung des 1. Motoneurons vor. Die Erkrankung zeigt nur Symptome des 2. Motoneurons.

### 3.1.4 Familie Nr.4

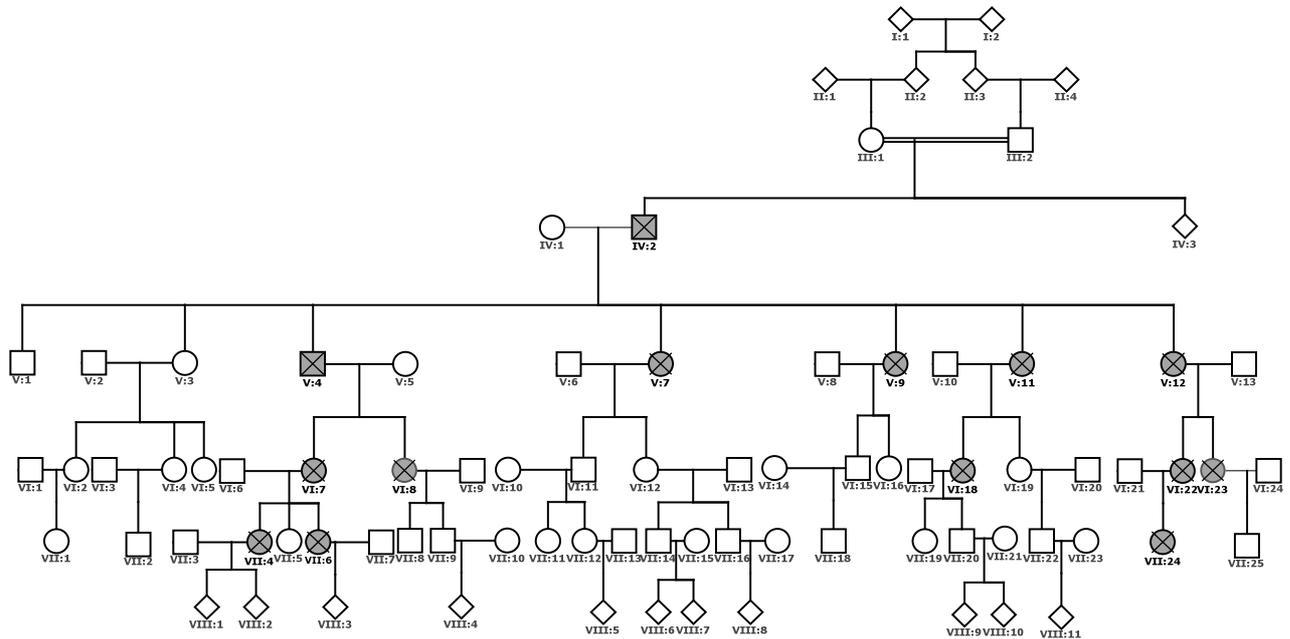


Abbildung 5: Stammbaum der Familie Nr. 4

- |                              |                        |                          |                     |
|------------------------------|------------------------|--------------------------|---------------------|
| □ = männlich, nicht erkrankt | ⊠ = männlich, erkrankt | ◇ = Geschlecht unbekannt | I-VIII = Generation |
| ○ = weiblich, nicht erkrankt | ⊙ = weiblich, erkrankt |                          | 1-25 = Individuum   |

In der Familie 4 erkrankten insgesamt 14 Familienmitglieder über drei Generationen. Die Familie besteht aus 87 Mitgliedern. Insgesamt sind zwei Männer und zwölf Frauen betroffen. Zu sieben Patienten sind die kompletten klinischen Daten vorhanden. Das durchschnittliche Erkrankungsalter liegt mit 33 Jahren unter dem üblichen Manifestationsalter der familiären ALS. Auch der Krankheitsverlauf ist ungewöhnlich lange. Er beträgt 10-20 Jahre. In der Generation V sind vier Schwestern und ein Bruder betroffen. Ein Bruder (V:1) starb mit 21 Jahren im 2. Weltkrieg und nur eine Schwester (V:2) der sieben Geschwister starb erst mit 85 Jahren, ohne an ALS zu erkranken. Der Vater IV:2 dieser Geschwister litt an Gehstörungen und Paresen beider Beine und starb mit 49 Jahren an respiratorischen Problemen. Seine Frau starb mit 79 Jahren an Hautkrebs.

VI:22, VI:23 und VI:18 erlitten mit ungefähr 30 Jahren eine progressive Schwäche der distalen Muskulatur der unteren (VI:23) und der oberen (VI:23, VI:18) Extremität. Ihre Erkrankung verlief langsam progredient über 30 Jahre. Es kam zu einer Tetraparese, deutlichen Zeichen einer Schädigung des 2. Motoneurons und später auch zu einer bulbären Symptomatik. VI:23 starb mit 65 Jahren und eine Autopsie ergab Ubiquitin-positive Einschlusskörperchen in der präzentralen Region des Motokortex und nur eine milde Degeneration der Pyramidenbahn.

VII:24, VII:4 und VII:6 erkrankten mit 38, 46 und 45 Jahren. Der Krankheitsverlauf war bei ihnen langsam fortschreitend mit einer schlaffen Tetraparese und klinischen Zeichen des 1. und 2. Motoneurons. Eine bulbäre Beteiligung lag nicht vor.

Eine Patientin (VI:23) soll exemplarisch detailliert beschrieben werden.

### 3.1.4.1 Patientin VI:23

#### Region der Erstsymptomatik

Die Erkrankung entwickelt sich von einer progredienten spinalen Parese sowie Atrophie der oberen Extremität zunehmend auch zu einer leichten Parese der unteren Extremität.

#### Vorwiegendes Motoneuron bei Erstsymptomatik

In der Familie zeigt sich durchgehend eine Betonung des 2. Motoneurons. Die Muskulatur der Patientin ist sehr schwach, deutliche Zungenfibrillationen und Faszikulationen der Handmuskulatur sind erkennbar. Zeichen des 1. Motoneurons werden in Form erhöhter Muskeleigenreflexen deutlich.

#### Vorwiegende Region im Verlauf

Die Beeinträchtigungen durch die Krankheit betreffen besonders das Laufen sowie die Feinmotorik der Hände.

#### Vorwiegendes Motoneuron im Verlauf

Die Beschwerden fokussieren sich auf das 2. Motoneuron. Neben den durch die Paresen der unteren Extremität verursachten Gangstörungen kommt es auch zu spastischen Beschwerden als Folge der Schädigung des 1. Motoneurons.

Nach einem 20 Jahre langen spinalen Verlauf treten bulbäre Symptome in Form von intermittierend auftretenden Schluckstörungen und Atemnot auf. In den letzten 10 Jahren bis zu ihrem Tod wird eine nicht-invasive Maskenheimbeatmung praktiziert.

In dieser Familie fällt auf, dass einige Erkrankte eine SOD1-Mutation aufweisen und einige nicht. Es gibt DNA von fünf der 14 erkrankten Mitglieder. Drei der fünf getesteten Personen

(VI:23, VII:24, VII:4) sind heterozygot für die E100K-Variante, die anderen zwei betroffenen Familienmitglieder (VI:8 und VII:6) tragen zwei normale E100 SOD1-Allele. Zwischen den drei Betroffenen mit der E100K SOD1-Mutation und den zwei Erkrankten ohne diese Mutation gibt es weder klinische noch neurophysiologische Unterschiede.

Drei (VII:5, VII:8, VIII:1; 26, 35, 44 Jahre) der 20 getesteten nicht erkrankten Familienmitglieder tragen die E100K SOD1-Genvariante.

## 3.2 Ergebnisse einer Auswertung der Datenbank

### 3.2.1 Ergebnisse der Exploration des familiären Erbganges

Durch ausführliche Recherche mittels Aktenstudium, Telefongesprächen, E-mail- oder Briefkontakten können 180 Familien nachgewiesen werden, die in den letzten zehn Jahren unter der Diagnose familiäre ALS geführt wurden. Alle 180 Familien werden zur Veranschaulichung in einer Datenbank aufgenommen. Von diesen Familien sind 99 Familien sicher familiär. Als sicher familiär werden Familien angesehen, in denen nachweislich mindestens zwei Familienmitglieder an einer Amyotrophen Lateralsklerose erkrankten. Bei 70 weiteren Familien ist zudem von einer familiären ALS auszugehen. Dies kann jedoch nicht durch eindeutige Belege bewiesen werden, sodass diese 70 Familien als wahrscheinlich familiär in der erstellten Datenbank zu führen sind. Bei elf Familien kann eine familiäre Komponente ausgeschlossen werden und bei zwei dieser Familien ist nach retrospektiver Analyse und aktuell durchgeführter Untersuchungen nicht von einer ALS auszugehen.

### 3.2.2 Ergebnisse der SOD1-Diagnostik

#### 3.2.2.1 Häufigkeit der SOD1-Mutation

Die Patienten, die noch mit der Erkrankung leben, erklärten sich weitgehend bereit, eine Blutprobe abzugeben, sofern diese noch nicht bei dem ersten Besuch in unserer Klinik veranlasst wurde. Die Patienten, die bereits verstorben sind und zu Lebzeiten keine Blutprobe abgegeben hatten, müssen als nicht getestet angesehen werden.

Insgesamt wurde bei 104 Familien die SOD1-Gendiagnostik durchgeführt.

Von den 99 Familien, bei denen sicher von einer familiären ALS auszugehen ist, wurden insgesamt 71 Familien auf die SOD1-Mutation getestet. In 59 Familien gibt es Erkrankte ohne

eine Veränderung in der Superoxid-Dismutase 1. Bei 14 Familien kann eine SOD1-Mutation nachgewiesen werden. In zwei Familien gibt es Betroffene sowohl mit einer SOD1-Mutation als auch Betroffene ohne diese Mutation. Dieses Ergebnis soll in der Diskussion noch ausführlich erläutert werden. Es erklärt jedoch, dass es bei den 71 getesteten Familien zu insgesamt 73 SOD1-Ergebnissen kommt, da die Testergebnisse dieser beiden Familien sowohl als positiv als auch als negativ getestet gewertet werden müssen.

Es ergibt sich ein Prozentsatz von 80% für ein rein negatives Ergebnis einer SOD1-Testung in einer Familie. In 20% der sicher an einer familiären ALS erkrankten Familien bestätigen die Testergebnisse eine Mutation der Superoxid-Dismutase 1. Bei 17% der Familien sind alle Erkrankten mit einer SOD1-Mutation belastet. Die gesunden Familienmitglieder tragen keine Mutation. In diesen Familien kosegregiert die Mutation mit der Erkrankung.

Von den 70 Familien, bei denen nicht sicher ist, ob die familiäre Form der ALS vorliegt, konnten 33 Familien auf die SOD1-Mutation getestet werden. Alle Familien weisen keine Veränderung in der Superoxid-Dismutase 1 auf.

### 3.2.2.2 Art der SOD1-Mutation

#### **R115G**

Die R155G-Mutation ist die häufigste Mutation in Deutschland. Auch in unserer Population lässt sich diese in drei Familien nachweisen und ist somit mit 21% die häufigste Mutation. Die Substitution Arg 115 Gly auf dem Exon 4 kann bei insgesamt sechs Betroffenen in diesen drei Familien diagnostiziert werden. Die Erkrankung mit dieser Mutation manifestiert sich im Erwachsenenalter. Die ALS äußert sich bei allen Betroffenen durch eine spinale Verlaufsform mit einem asymmetrischen Beginn in der unteren Extremität. Die Überlebenszeit beträgt bei allen Betroffenen nur 2-3 Jahre.

#### **E100K**

Bei sechs Mitgliedern einer Familie lässt sich die E100K-Mutation nachweisen. Nur drei der sechs Mitglieder mit der Glu 100 Lys Substitution auf dem Exon 4 sind an einer ALS erkrankt. Hingegen weisen zwei klinisch betroffene Mitglieder dieser Familie keine SOD1-Mutation auf. Da diese Mutation zuvor erst einmal beschrieben worden ist, soll sie in der Diskussion noch ausführlich erläutert werden.

### **L144F**

Bei zwei Familien zeigt sich eine Leu 144 Phe Substitution auf dem Exon 5. Insgesamt kann die Mutation bei zwei Betroffenen nachgewiesen werden. Bei der Erkrankung mit einer L144F-Mutation zeigt sich ein langsamer Verlauf mit einer beinbetonten progredienten Schwäche und Muskelatrophie aller vier Extremitäten. Es kommt im Krankheitsverlauf zu Feinmotorikstörungen der oberen Extremität. Die Beschwerden der unteren Extremität dominieren jedoch während der gesamten Krankheitsdauer. Eine bulbäre Symptomatik kann nicht einheitlich festgestellt werden und variiert zwischen den Familien. Der Ausbruch der Erkrankung findet im Erwachsenenalter statt.

### **I104F**

Diese Mutation auf dem Exon 4 tritt nur in einer Familie auf. Die Erkrankung hat einen sehr langsamen Verlauf von bereits über 13 Jahren und beginnt im Erwachsenenalter. Neben einer progredienten Schwäche und distal betonten Muskelatrophie der Arme und Beine zeigt sich auch eine bulbäre Symptomatik.

### **D90A**

Auch die D90A, die das Exon 4 betrifft und als weltweit häufigste SOD1-Mutation bei der ALS beschrieben wird, kommt in zwei Familien vor. Es liegt typischerweise ein autosomal-rezessiver Erbgang vor. Ebenso in unseren Familien sind unsere Indexpatienten homozygot für die D90A-Mutation. Zwei gesunde Söhne und ein gesunder Bruder einer Familie sind heterozygot für diese Mutation. Die Erkrankung bricht bei allen Betroffenen im Erwachsenenalter aus. Nach einer symmetrischen Parese der unteren Extremität kommt es im Krankheitsverlauf zu einer ebenfalls symmetrischen Schwäche der oberen Extremität. Nach einem 5-7 jährigen Verlauf endet die Erkrankung mit einer Dysphagie.

### **L38V**

Diese Mutation betrifft das Exon 2 und findet sich nur in einer Familie. Die Erkrankung beginnt im frühen Erwachsenenalter und beginnt mit einer symmetrischen distal betonten schlaffen Parese und Muskelatrophie der Arme und Beine. Als erste Symptome werden Gangstörungen beschrieben. Es kommt im Krankheitsverlauf auch zu einer bulbären Symptomatik. Die Überlebenszeit der Erkrankung beträgt 3-4 Jahre.

### **I149T**

Bei der I149T kommt es zu einer Substitution auf dem Exon 5. Sie kann nur in einer Familie diagnostiziert werden. Der Ausbruch zeigt sich im Erwachsenenalter. Bei der Erkrankung mit einer I149T-Mutation dominiert eine langsam progrediente asymmetrische schlaffe Paraparese der Beine. Eine bulbäre Symptomatik kann nicht eindeutig eruiert werden.

### **L84F**

Die Mutation L84F tritt in einer Familie auf. In dieser Familie gibt es einen Betroffenen mit dieser Mutation. Bei der ebenfalls an ALS erkrankten Mutter des Patienten kann keine SOD1-Mutation nachgewiesen werden. Die Erkrankung beginnt bei beiden Betroffenen im frühen Erwachsenenalter. Es zeigen sich eine proximal betonte Parese der unteren Extremität und ein asymmetrischer Befall der oberen Extremität. Bei beiden Betroffenen liegt eine schwere Bulbärparalyse vor. Die Überlebenszeit ist durch den rasch progredienten Verlauf der Erkrankung mit 1-2 Jahren sehr kurz.

### **H48R**

Auch diese Mutation findet sich nur in einer Familie. Auch bei dieser Mutation beginnt die Erkrankung im Erwachsenenalter. Es dominiert eine symmetrische beinbetonte schlaffe atrophe Extremitätenparese mit keiner klinisch relevanten Bulbärsymptomatik. Der Verlauf ist sehr langsam und beträgt über 20 Jahre.

### **V148G**

Die V148G Mutation im Exon 5 wird in einer Familie diagnostiziert. In dieser Familie ist der Verlauf der Erkrankung von einer bulbären Symptomatik geprägt. Die Erkrankung beginnt mit einer Schwäche der Arme und Beine. Bei allen Betroffenen zeigt sich ein sehr kurzer Krankheitsverlauf von unter zwei Jahren.

Tabelle 3

**Art und Häufigkeit der Superoxid Dismutase 1-Mutationen in den positiv getesteten Familien**

Exon	Mutation	Aminosäure-austausch	Alter bei Ausbruch	Anzahl der Betroffenen
2	H48R	His-Arg	53	1
2	L38V	Leu-Val	31	2
4	R115G	Arg-Gly	66	4
4	R115G	Arg-Gly	67	2
4	R115G	Arg-Gly	64	2
4	E100K	Glu-Lys	33	14
4	I104F	Iso-Phe	60	3
4	D90A	Asp-Ala	65	2
4	D90A	Asp-Ala	61	2
4	L84F	Leu-Phe	33	2
5	I149T	Ile-Thr	51	3
5	V148G	Val-Gly	55	4
5	L144F	Leu-Phe	46	3
5	L144F	Leu-Phe	57	5

### 3.2.3 Ergebnisse anderer genetischer Untersuchungen

#### 3.2.3.1 Angiogenin und VEGF

Insgesamt werden 37 Familien auf VEGF- und Angiogenin-Genveränderungen getestet. 36 Familien gehören zu den 99 Familien mit einer sicher familiären Form der ALS. Bei keiner der 37 Familien ist eine Veränderung im Angiogenin-Gen festzustellen. Eine VEGF-Genveränderung findet sich geschlechtsunspezifisch in zwölf Familien. Elf dieser Familien mit einer Veränderung im VEGF-Gen sind sicher familiär. In 29 Familien gibt es Betroffene ohne eine Genveränderung. In vier Familien werden sowohl Erkrankte mit einer Veränderung im VEGF-Gen als auch Erkrankte ohne diese Genveränderung eruiert. Es ergibt sich ein Prozentsatz von 31% für eine VEGF-Genveränderung bei der sicher familiären Form der ALS und 69% für ein rein negatives Ergebnis der VEGF-Diagnostik für alle Betroffenen innerhalb einer Familie unserer Population.

Bei zwei Patienten lässt sich sowohl eine SOD1-Mutation als auch eine VEGF Genveränderung nachweisen.

#### 3.2.3.2 Dynactin

Insgesamt werden 33 Familien auf eine Veränderung des Dynactin-Gens getestet. Von diesen Familien haben 23 Familien eine sicher familiäre Form der ALS. Elf dieser 23 Familien weisen eine Veränderung des Gens auf. Durch die geringe Fallzahl ergibt sich ein hoher Prozentsatz von 48%. Zehn Familien der 33 getesteten Familien können nur als

wahrscheinlich familiär bezeichnet werden. Von diesen zehn Familien weisen neun Familien eine Veränderung im Dynactin-Gen auf.

### 3.2.3.3 TDP-43

Auf Veränderungen im TDP-43 Gen werden 18 Familien getestet. Zwei Familien zeigen eine heterozygote Missense-Mutation auf dem TARDBP. Es zeigte sich die G348C und die N352S Mutation auf dem Exon 6. Der Ausbruch der Erkrankung liegt zwischen 31 und 68 Jahren. Bei frühem Krankheitsbeginn liegt ein langsamer Verlauf mit bis zu 13 Jahren vor. Bei späterem Ausbruch beträgt der Verlauf nur 3-4 Jahre. Alle Betroffenen erkranken an der spinalen Verlaufsform der ALS. Es treten keine relevanten bulbären Symptome noch kognitive Einschränkungen auf. Die Erkrankung beginnt in der rechten distalen oberen Extremität und befällt nach den Armen auch die Beine. Im Verlauf zeigt sich eine progressive asymmetrische Tetraparese.

### 3.2.3.4 Senataxin und FUS/TLS

Die Testungen auf Senataxin und FUS/TLS konnten bis zur Abgabe dieser Arbeit noch nicht fertig gestellt werden. Die neue Mutation FUS/TLS wurde erst kürzlich beschrieben. Eine Diagnostik auf diese Mutation soll bei allen fALS-Patienten in Zukunft erfolgen.

## 4. Diskussion

### 4.1 Übersicht der Ergebnisse

In dieser Arbeit wurden die Häufigkeit und Relevanz der SOD1-Mutation in familiären ALS-Fällen untersucht.

Anhand der El Escorial-Kriterien und einer intensiven Recherche der Stammbäume ergeben sich 99 Familien als sicher familiär. Bei 70 Familien ist eine familiäre ALS sehr wahrscheinlich, kann jedoch aufgrund fehlender Bestätigung nicht sicher festgestellt werden. Das liegt zum einen daran, dass einige Familien nicht mehr erreichbar oder verzogen sind und zum anderen, dass keine Informationen über früher Erkrankte zur Verfügung stehen bzw. nicht eindeutig eruiert werden kann, ob es sich bei der Erkrankung eines verstorbenen Angehörigen um eine ALS handelte.

Von 71 Familien der sicher familiären ALS-Fälle konnte Blut untersucht werden. Bei 20% der 71 untersuchten Familien lässt sich eine SOD1-Mutation feststellen. Bei 80% dieser Familien konnte keine SOD1-Mutation nachgewiesen werden. In zwei Fällen treten innerhalb einer Familie sowohl Erkrankte mit einer SOD1-Mutation als auch Erkrankte ohne eine SOD1-Mutation auf.

In den 70 Familien mit einer wahrscheinlich familiären Komponente konnten 33 Familien getestet werden. Es gibt bei keiner Familie eine SOD1-Mutation.

In drei Familien tritt die R155G-Mutation, die die häufigste SOD1-Mutation in Deutschland ist, auf. Das in unseren Familien beschriebene Erkrankungsalter und die kurze Überlebenszeit von 2-3 Jahren stimmt mit früheren Beschreibungen von Kostrzewa et al. überein [61]. In einer Familie kann die E100K-Mutation, die zuvor erst einmal beschrieben wurde, nachgewiesen werden [39]. Diese Mutation wird im Folgenden noch näher diskutiert. Die H48R-Mutation wurde erstmals im Jahre 2003 beschrieben [6].

Weitere Mutationen in unserer Population sind die L144F-, I104F-, D90A-, L38V-, I149T-, L84F- und V148G-Mutation. Die I104F-Mutation auf dem Exon 4 wurde erstmals 1995 von Ikeda et al. beschrieben [52]. Die Erkrankung mit dieser Mutation äußerte sich klinisch sehr unterschiedlich bei den Betroffenen und variierte im Alter bei Ausbruch, in der Überlebenszeit und im Verlauf. Die D90A-Mutation beschrieb Andersen et al. 1995 [4]. Der dokumentierte Verlauf der Erkrankung ist mit dem Verlauf unserer Familie vergleichbar. Bei Krankheitsausbruch dominieren Schwäche und Atrophie der unteren Extremität das Krankheitsbild. Auch der Manifestationszeitpunkt weicht nur unwesentlich von den von

Andersen et al. beschriebenen Familien ab. Bei einer L38V-Mutation kommt es meist zu einem frühen Erkrankungsalter [22]. Sie gehört zu den ersten Mutationen, die 1993 von Rosen et al. beschrieben wurden [95]. Die Klinik unserer Familie mit einer L84F-Mutation auf dem Exon 4 unterscheidet sich nur gering von den von Shaw et al. 1998 [100], Ceroni et al. 1999 [22] und Curti et al. 2002 [31] beschriebenen Familien. Es dominieren in Form von einer Schwäche und Atrophie besonders der unteren Extremität die Symptome des 2. Motoneurons. In unserer Familie kann ein relativ früher Beginn mit 33-34 Jahren beobachtet werden. Ceroni et al. beschreibt den Ausbruch der Erkrankung bei seinen Familien mit 42,8 +/- 11,3 Jahren. Auch der Verlauf liegt mit 1-2 Jahren leicht unter den bereits beschriebenen Familien mit einer durchschnittlichen Überlebenszeit von fünf Jahren. Die V148G-Mutation wurde nur einmal zuvor von Deng et al. 1993 beschrieben [34].

Die familiären ALS Fälle werden auch auf andere pathogenetisch relevante Genveränderungen wie Dynactin, VEGF und TDP-43 untersucht. Ihre Pathogenität kann bisher noch nicht eindeutig bestätigt werden. In unserer Population scheinen die Mutationen mit der Erkrankung ALS in Verbindung zu stehen. Aufgrund der geringen Fallzahlen können sie jedoch nur eingeschränkt bewertet werden. Interessant sind auch Familien, die sowohl eine SOD1-Mutation als auch eine weitere vermutlich pathogene Genveränderung aufzeigen. In diesem Gebiet stehen noch viele Fragen offen und es besteht intensivster Forschungsbedarf.

## 4.2 Erläuterung der Ergebnisse

### 4.2.1 Die Bedeutung der SOD1-Mutation für die familiäre Amyotrophe Lateralsklerose

Die SOD1-Mutation wurde schon häufig als krankheitsverursachende Mutation bei der familiären Amyotrophen Lateralsklerose beschrieben. In transgenen Mäusen konnte ein Ausbruch der Erkrankung durch die Mutation erzeugt werden. Auch in anderen Populationen wurde ein Prozentsatz von 20% für eine SOD1-Mutation bei familiären ALS-Fällen festgestellt [101, 108] und stimmt somit mit unserer Population überein. Wir können daher auch für diese deutsche Population, die an der Klinik und Poliklinik der Universität Ulm in ambulanter oder stationärer Betreuung war, in 20% der Fälle eine Korrelation zwischen der Erkrankung und der Mutationen angeben.

## 4.2.2 Relevanz der SOD1-Mutation

In unserer Population gibt es Familien, in denen die SOD1-Mutation nicht einheitlich mit der ALS korreliert und die SOD1-Mutation nicht eindeutig für die Erkrankung verantwortlich gemacht werden kann. Dies äußert sich in unserer Familie Nr. 4 darin, dass in dieser Familie Erkrankte mit SOD1-Mutation und Erkrankte ohne diese Mutation aufgezeigt werden können. Von den 14 Betroffenen gibt es von fünf Erkrankten Blutproben. Drei davon tragen eine E100K-Mutation, zwei tragen das normale E100K-Allel. Es gibt außerdem drei nicht Betroffene, die die E100K-Mutation tragen. Auf Grund ihres relativ jungen Alters (26, 35 und 44 Jahre) kann natürlich eine zukünftige Erkrankung noch nicht ausgeschlossen werden. Da das mittlere Erkrankungsalter bei dieser Familie allerdings bei 32.5 Jahren liegt, kann zumindest angenommen werden, dass nicht die SOD1-Mutation alleine bei den Erkrankten ursächlich war. Die Mutation kosegregiert in dieser Familie nicht mit der Erkrankung.

Auch in der Familie, in der ein Betroffener eine L84F-Mutation aufweist, seine ebenfalls an einer ALS erkrankte Mutter jedoch keine Genveränderung zeigt, muss eine Assoziation der L84F SOD1-Mutation und der Erkrankung an fALS in Frage gestellt werden.

Schon 2003 wurden von Reznia et al. [93] 21 SOD1-Mutationen beschrieben, bei denen es zu weniger Erkrankten und teilweise auch Gesunden, die die Mutation tragen, kommt. Diese Ergebnisse werden in der medizinischen Fachliteratur überwiegend mit einer unvollständigen Penetranz der Krankheitsverursachenden Mutationen erklärt. Es gibt jedoch in diesen geschilderten Familien mit den SOD1-Mutationen keine Erkrankten ohne eine Mutation, was in unseren Familien der Fall ist.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass die SOD1-Mutation sicherlich im Zusammenhang mit einer familiären Amyotrophen Lateralsklerose steht. Auf Grund der Untersuchungsergebnisse (zwei Familien, von denen einige mit und andere ohne SOD1-Mutation erkrankten und Familien, die die SOD1-Mutation und eine VEGF-Mutation aufweisen) kann angenommen werden, dass die SOD1-Mutation nicht alleine zu einer Erkrankung führt, sondern eher im Zusammenhang mit anderen Faktoren im Sinne einer multifaktoriellen Krankheitsätiologie zu sehen ist. Die SOD1-Mutation könnte Teil einer oligo- oder polygenetischen Vererbung sein, diese Vererbung könnte weitere oligo- oder polygenetische Veränderungen hervorrufen, die dann zum Erkrankungsbild der ALS führen.

Diese Pathogenese ist in unserer Familie mit der E100K-Mutation stark anzunehmen und könnte auch für die D90A und andere SOD1-Mutationen gelten, die identifiziert worden sind.

### 4.2.3 Epidemiologische Verteilung der SOD1-Mutation

In dem Vorkommen der unterschiedlichen SOD1-Mutationen gibt es geographische Unterschiede. Die Häufigkeit der einzelnen Mutationen ist nicht in allen Ländern gleich. Während die D90A-Mutation in Skandinavien die häufigste SOD1-Mutation darstellt, ist sie in Deutschland eher selten. Hier ist die R155G-Mutation weitaus häufiger [82]. Die A4V wird besonders häufig in den Vereinigten Staaten von Amerika beschrieben [7, 36].

Die E100K-Mutation wurde zuvor nur in einer fALS Familie beschrieben und es ist anhand der vorliegenden Publikationen unklar, von wie vielen Familienmitgliedern DNA getestet wurde [102]. Neben unserer deutschen Familie (Familie Nr. 4) weist noch eine Familie aus Frankreich die E100K-Mutation auf. In der französischen Familie konnten drei von sieben an ALS Erkrankten auf die E100K-Mutation getestet werden. Zwei tragen die Mutation, wohingegen Einer ohne eine Mutation erkrankte. Auch in dieser Familie kam es zu nicht betroffenen Trägern der SOD1-Mutation (mündliche Mitteilung durch Prof. W. Camu, Montpellier).

Der Phänotyp der von Siddique et al. [102] beschriebenen Familie mit der E100K-Mutation stimmt von allen 36 Familienmitgliedern mit dem Phänotyp der französischen und unserer deutschen Familie (Familie Nr. 4) weitgehend überein.

### 4.2.4 Mögliche Fehlerquellen

In einer Familie gibt es einen Betroffenen mit der H48R SOD1-Mutation. Diese Mutation wurde zuvor nur einmal beschrieben [6]. Der Erkrankte hat eine als sicher definierte Amyotrophe Lateralsklerose. In dessen Familie gibt es jedoch keinen weiteren Betroffenen, dessen Erkrankung wir sicher einer ALS zuordnen können. In dieser Familie war von einer familiären Komponente auszugehen, die von der positiven SOD1-Diagnostik unterstützt wird. Dieser Patient muss jedoch als sporadischer ALS-Patient eingestuft werden, da keine eindeutige familiäre Komponente vorliegt. Der Patient könnte zufällig eine benigne SOD1-Mutation besitzen, die mit seiner Erkrankung nicht zu assoziieren ist. Vielleicht verursacht auch der Krankheitsprozess der ALS selbst durch einen noch unbekanntem Pathomechanismus die H48R-Mutation, sodass sie ein Resultat der Erkrankung selbst ist. Der Patient möchte seine Angehörigen nicht von dieser Mutation in Kenntnis setzen, sodass wir leider auch keine Diagnostik an nicht Betroffenen vornehmen können. Diese Familie sollte weiterhin betreut werden, sodass eventuelle weitere Erkrankungen in der Familie bemerkt werden und

daraufhin ein erneuter Versuch einer Blutuntersuchung der gesamten Familie vorgenommen werden könnte. Sollte sich eine familiäre Komponente bestätigen, könnte die H48R-Mutation erneut als pathogenetisch relevante Mutation beschrieben werden. Andernfalls kann angenommen werden, dass die Mutation spontan entstanden oder gar kein Zusammenhang mit der Erkrankung ALS zu sehen ist. Anzumerken wäre, dass auch bei der sporadischen ALS in 0-7,3% der Fälle eine SOD1-Mutation beschrieben wird [7].

Eine weitere Fehlerquelle kann die richtige Diagnosestellung sein. Da die Erkrankung früher wenig bekannt war, wurden viele Patienten mit einer ALS nicht als solche diagnostiziert. Andersherum sind wir bei vielen bereits verstorbenen Betroffenen auf alte Arztbriefe und Angehörigenberichte angewiesen. Auch hier kann es sein, dass Patienten zu großzügig mit der Diagnose ALS versehen wurden. Bei einem Patienten, dessen Diagnose fALS lautete, konnte ein Hausbesuch diese Diagnose nicht bestätigen. Der Patient lebt bereits seit über 27 Jahren mit den Symptomen, weist aber nur eine geringgradige Beteiligung des 2. Motoneurons auf und zeigt autonome Dysfunktionen und Sphinkterstörungen. Die ausführliche Anamnese ergibt viele neurologische Erkrankungen in der Familie, eine Amyotrophe Lateralsklerose kann jedoch anhand der klinischen Darstellung und Anamnese bei unserem Patienten ausgeschlossen werden. Es ist anzunehmen, dass es noch weitere Patienten gibt, die ebenfalls die El Escorial-Kriterien nicht erfüllen und somit mit einer falschen Diagnose geführt werden.

#### 4.2.5 Andere Genveränderungen

Andere pathogenetisch relevante Genveränderungen wurden weniger häufig als die SOD1-Mutation getestet und es besteht daher auch eine etwas eingeschränkte Interpretationsmöglichkeit. Dennoch können einige Auffälligkeiten beobachtet werden. Es besteht in dem Bereich dieser Genveränderungen noch viel Forschungsbedarf. In dieser Arbeit soll durch die tabellarische Darstellung in Form einer Datenbank ein direkter Vergleich der unterschiedlichen Mutationen ermöglicht werden. So können unterschiedliche Mutationen bei dem gleichen Patienten direkt aufgezeigt werden.

#### **VEGF**

Die VEGF-Genveränderungen wurde bei 37 Familien nachgewiesen. Der hohe Wert von 31% positiver Befunde ist nur eingeschränkt beurteilbar, da nicht genügend Probanden zur Verfügung standen. Es fehlen auch Vergleichsdaten von klinisch nicht Betroffenen für diese

Genveränderung. Das VEGF-Gen könnte nur ein Risiko-Allel darstellen, das auch bei Gesunden zu finden ist. Eine Assoziation zwischen einer Veränderung im VEGF-Gen und ALS kann in unserer Population nur vermutet werden. Widersprüchlich dazu ist, dass es in vier Familien Erkrankte sowohl mit als auch ohne einer Veränderung des VEGF-Gens gibt. In zwei Familien gibt es Betroffene, die sowohl eine Veränderung im VEGF-Gen, als auch eine SOD1-Mutation aufweisen. Gegen eine direkte Assoziation spricht, dass in einer Familie zwei an ALS-Erkrankte eine SOD1-Mutation aufweisen, jedoch nur einer dieser beiden auch eine VEGF-Genveränderung hat. In dieser Familie gibt es jedoch auch einen nicht Erkrankten, der ebenfalls eine SOD1-Mutation aufweist. Diese Familie zeigt, dass ein Zusammenspiel verschiedener Gene für die Erkrankung anzunehmen ist und ALS nicht auf ein einzelnes bestimmtes Gen zurückzuführen ist.

In der Literatur gibt es viele widersprüchliche Studien über die Relevanz des VEGF-Gens bei dem Menschen. In Tierversuchen konnte durch VEGF allerdings eine neuroprotektive Wirkung, eine Verlangsamung der Krankheitsprogression der ALS und eine Verlängerung der Überlebenszeit der Tiere aufgezeigt werden [9, 106, 107, 114]. Es könnte sein, dass VEGF eine Rolle bei Patienten spielt, die bereits prädisponiert sind an einer ALS zu erkranken. Vielleicht wird durch die VEGF-Genveränderung eine Dysbalance erzeugt, die letztendlich die Erkrankung zum Ausbruch bringt.

### **Angiogenin**

Angiogenin wurde ebenfalls in 37 Familien getestet. Es kann keine Genveränderung aufgezeigt werden. Deshalb ist davon auszugehen, dass die Angiogenin-Genveränderung nicht im Zusammenhang mit einer fALS bei unserer Population steht. Angiogenin scheint eine geographische Abhängigkeit zu besitzen und in der süddeutschen Population nicht vorzukommen.

### **TDP-43**

Veränderungen des TDP-43 Gens lassen sich in zwei Familien feststellen. Insgesamt wurden nur 18 Familien getestet, sodass eine Aussage über eine mögliche Korrelation durch diese Arbeit nicht getroffen werden kann. Das Krankheitsbild der Familien ist jedoch mit dem in der medizinischen Literatur beschriebenen Bild bei TDP-43 Genveränderungen vergleichbar. Auch die zytoplasmatischen Proteinaggregate und der defekte RNA-Metabolismus scheint plausibel mit dem Pathomechanismus der ALS in Verbindung zu stehen. Es ist jedoch nicht klar, ob die Aggregation von TDP-43 die ALS verursacht oder nur ein Begleiteffekt im

Krankheitsprozess ist. In einer dieser beiden betroffenen Familien gibt es zusätzlich eine Dynactin-Genveränderung. In dieser Familie weist sowohl die erkrankte Mutter als auch die 39 jährige nicht Erkrankte Tochter eine G348C-Veränderung im TDP-43 Gen auf. Bei der Mutter findet sich zusätzlich eine Arg495Glu Dynactin-Genveränderung. Interessant ist hier die Rolle des Dynactin-Gens. Die Dynactin-Genveränderung könnte nur ein Begleiteffekt der ALS sein. Andersherum könnte die Erkrankung auch auf die Veränderung des Dynactin-Gens zurückzuführen sein. Die Tochter trägt die TDP-43 Genveränderung, ist jedoch nicht erkrankt. Es ist jedoch anzunehmen, dass die Tochter ebenso wie ihre Mutter erst in den 50ern an ALS erkranken könnte. Die Tochter sollte unbedingt auf die Dynactin-Genveränderung getestet werden. Tritt bei ihr das Dynactin-Gen ohne eine Veränderung in Erscheinung und erkrankt sie nicht an einer ALS, kann man annehmen, dass die Dynactin-Genveränderung den entscheidenden Einfluss auf den Pathomechanismus der Erkrankung nimmt. Erkrankt die Tochter ebenfalls an ALS und trägt ein normales Dynactin-Gen sollte der Phänotyp der beiden Betroffenen verglichen werden. Dynactin könnte ein modifizierender Faktor sein und den Phänotyp der Erkrankung beeinflussen. Beide Genveränderungen könnten auch gleichermaßen auf die Erkrankung einwirken und es könnte so ein polygenetischer Krankheitsprozess vorliegen.

### **Dynactin**

Dynactin konnte in 33 Familien getestet werden und ergab einen ausgesprochenen hohen Anteil an Genveränderungen. Von 23 als sicher familiär bezeichneten, weisen elf Familien eine Veränderung des Gens auf und von den zehn getesteten Familien mit einer wahrscheinlichen familiären Komponente ist bei neun Familien eine Genveränderung nachzuweisen.

Bei den elf positiven fALS Familien liegt bei neun Familien eine Arg495Glu-Veränderung vor. Ile196Val und Thr1249Ile werden jeweils nur einmal beschrieben. Innerhalb einer Familie wird nur die gleiche Art der Dynactin-Genveränderung beobachtet. Bis auf in der Familie Nr. 4 weisen nur an ALS Erkrankte die Genveränderung auf. Nicht Erkrankte wurden jedoch nicht ausreichend oft auf diese Genveränderung getestet, um sicher von einer Kosegregation mit fALS sprechen zu können. In der Familie Nr. 4 haben alle getesteten Erkrankten ein normales Dynactin-Gen. Ein gesunder Proband weist jedoch die Arg495Glu-Veränderung auf.

Um eine höhere Fallzahl und damit höhere Aussagekraft zu erreichen, wäre es sinnvoll, künftig alle fALS-Familien zu testen. In der Dynactin-Diagnostik ist auffallend, dass viele

Familien, die als wahrscheinlich familiär eingestuft sind, weil keine eindeutigen Beweise einer familiären Komponente vorliegen, ebenso eine Veränderung des Dynactin-Gens aufweisen. Es darf deshalb vermutet werden, dass das Dynactin-Gen mit einer ALS in Verbindung steht. Vielleicht tritt das Dynactin-Gen weniger bei einem erblichen Vorgang in Erscheinung, sondern ist an der Entwicklung der Erkrankung beteiligt und steht mit anderen Genen in Verbindung. Damit könnte das Dynactin-Gen einen Teil einer multifaktoriellen Krankheitsgenese darstellen.

#### 4.2.6 Schlussfolgerung

Durch die tabellarische Darstellung aller Genveränderungen in Form einer Datenbank sowie derer eingehenden Betrachtung wird die Annahme unterstützt, dass die familiäre Amyotrophe Lateralsklerose nicht einer einzelnen Genveränderung zuzuschreiben, sondern von einer komplexen polygenetischen Vererbung auszugehen ist. Die Untersuchungen zeigen eine Assoziation der SOD1-Mutation mit der fALS, beweisen diese jedoch nicht. Die Familien, in denen einige Erkrankte keine Mutation und einige Gesunde eine SOD1-Mutation aufweisen, zeigen, dass ein komplexerer Mechanismus hinter der Erkrankung stehen muss. Veränderungen im VEGF-Gen, Dynactin-Gen und im TDP-43 scheinen ebenfalls eine Rolle in dem Pathomechanismus der ALS zu spielen. Um einen direkten Zusammenhang zu beweisen, sollten noch weitere Studien mit größeren Patientenzahlen erfolgen. Es wäre sicher von großem Nutzen, wenn von allen ALS-Patienten deutschlandweit eine Diagnostik aller pathogenetisch relevanten Mutationen durchgeführt und alle Ergebnisse in einer tabellarischen Zusammenfassung notiert würden. Somit könnte eine hohe Fallzahl garantiert und kosegregierende Genveränderungen direkt aufgezeigt werden. Interessant wäre sicherlich weiterhin nach den Ursachen der unterschiedlichen Genveränderungen zu suchen. Welche Faktoren oder Gene führen zu dieser Mutation? Vielleicht gibt es sogar Gene, die eine SOD1-Mutation hervorrufen können, sodass es sich bei den nachgewiesenen Mutationen um ein epigenetisches Phänomen handeln würde. Vielleicht ist in diesem Sinne auch ein anderes Gen für eine Variation des VEGF-Gens verantwortlich. Wenn noch weitere Betroffene ermittelt werden könnten, bei denen sowohl eine SOD1-Mutation als auch eine VEGF-Genveränderung vorliegt, wäre es von großem Interesse, nach weiteren Gemeinsamkeiten dieser Patienten zu forschen. Haben sie ähnliche Risikofaktoren? Vielleicht ist ein ganz anderes Gen, das sowohl die SOD1-Mutation als auch die VEGF Genveränderung als Begleiteffekt haben könnte, für die Erkrankung ursächlich.

Im Bereich der ALS-Forschung besteht noch viel Forschungsbedarf mit vielen Ansatzmöglichkeiten. Patienten mit einer familiären Amyotrophen Lateralsklerose sollten auch weiterhin genetisch untersucht werden und die Ergebnisse eingehend studiert und aufgezeichnet werden.

## 5. Zusammenfassung

Die Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist die häufigste, tödlich verlaufende Motoneuronenerkrankung bei der es zu einer progressiven Degeneration des 1. und 2. Motoneurons kommt. Die Überlebenszeit der sich im Erwachsenenalter manifestierenden Erkrankung liegt meist unter fünf Jahren. Die meisten ALS-Fälle sind sporadisch (sALS), in 5-10% der Fälle tritt ALS familiär gehäuft auf (fALS).

Ziel dieser Arbeit ist es, alle fALS-Patienten, die im Zeitraum der letzten 10 Jahre in der Klinik und Poliklinik für Neurologie der Universität Ulm, vorstellig waren, hinsichtlich pathogenetisch relevanter Genveränderungen zu untersuchen. Durch retrospektive Aktenrecherche konnten 180 Familien ausfindig gemacht werden, von denen 99 Familien sicher an der familiären Form der ALS erkrankt sind. Die Mutationsdiagnostik wurde von verschiedenen Humangenetischen Instituten durchgeführt.

Die bekannteste und am häufigsten beschriebene Superoxid Dismutase-1 (SOD1) Mutation tritt in 20% der eindeutig als familiär eingestuften ALS-Patienten unserer Population auf. Auffallend ist, dass die SOD1-Mutationen E100K und L84F nicht mit der Erkrankung kosegregieren. In diesen Familien gibt es sowohl Erkrankte als auch Gesunde mit einer SOD1-Mutation und auch Erkrankte ohne diese Mutation.

Andere pathogenetisch relevante Genveränderungen, wie Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Dynactin und transactivation response DNA-binding protein 43 (TDP-43), scheinen ebenfalls mit der Erkrankung in Verbindung zu stehen. Um dies zu bestätigen, sollten höhere Fallzahlen untersucht werden. Ein weiterer interessanter Ansatzpunkt ist die Kosegregation einiger Mutationen. Bei einigen Patienten können zwei unterschiedliche Genveränderungen beobachtet werden. In diesen Familien sollte geprüft werden, welche Faktoren zu den Veränderungen beider Gene geführt haben könnten.

Durch diese Arbeit kann die Häufigkeit von SOD1-Mutationen in Deutschland von 20% beschrieben werden. Dieses Ergebnis stimmt somit an Anlehnung an die bisher berichteten Studien mit der Weltbevölkerung überein. Andere Genveränderungen im Dynactin, VEGF und TDP-43 können bei familiären ALS-Fällen aufgezeigt werden und scheinen mit der familiären ALS in Verbindung zu stehen. Die Genveränderungen und deren Zusammenhänge sollten weiterhin Bestandteil der Forschung sein. Die durch diese Arbeit erstellte Datenbank von 180 Familien stellt einen wichtigen Grundstein für weitere intensive Forschungsarbeit dar. In Kürze sollen die Familien auch auf die neu beschriebene fused in sarcoma/translated in liposarcoma (FUS/TLS)-Genveränderung untersucht werden.

## 6. Literaturverzeichnis

- [1] Abalkhail H, Mitchell J, Habgood J, Orrell R, de Belleruche J: A new familial amyotrophic lateral sclerosis locus on chromosome 16q12.1-16q12.2. *Am. J. Hum. Genet.* 73: 383-389 (2003)
- [2] Abrahams S, Goldstein L H, Simmons A, Brammer M, Williams S C, Giampietro V, Leigh P N: Word retrieval in amyotrophic lateral sclerosis: a functional magnetic resonance imaging study. *Brain* 127: 1507-1517 (2004)
- [3] Al-Chalabi A, Leigh P N: Recent advances in amyotrophic lateral sclerosis. *Curr. Opin. Neurol.* 13: 397-405 (2000)
- [4] Andersen P M, Nilsson P, Ala-Hurula V, Keranen M L, Tarvainen I, Haltia T, Nilsson L, Binzer M, Forsgren L, Marklund S L: Amyotrophic lateral sclerosis associated with homozygosity for an Asp90Ala mutation in CuZn-superoxide dismutase. *Nat. Genet.* 10: 61-66 (1995)
- [5] Andersen P M, Nilsson P, Keranen M L, Forsgren L, Hagglund J, Karlsborg M, Ronnevi L O, Gredal O, Marklund S L: Phenotypic heterogeneity in motor neuron disease patients with CuZn-superoxide dismutase mutations in Scandinavia. *Brain* 120: 1723-1737 (1997)
- [6] Andersen P M, Sims K B, Xin W W, Kiely R, O'Neill G, Ravits J, Piro E, Harati Y, Brower R D, Levine J S, Heinicke H U, Seltzer W, Boss M, Brown R H, Jr: Sixteen novel mutations in the Cu/Zn superoxide dismutase gene in amyotrophic lateral sclerosis: a decade of discoveries, defects and disputes. *Amyotrophic Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 4: 62-73 (2003)
- [7] Andersen P M: Amyotrophic lateral sclerosis associated with mutations in the CuZn superoxide dismutase gene. *Curr Neurol Neurosci Rep* 6: 37-46 (2006)
- [8] Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, Ikeda K, Nonaka T, Mori H, Mann D, Tsuchiya K, Yoshida M, Hashizume Y, Oda T: TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 351: 602-611 (2006)
- [9] Azzouz M, Ralph G S, Storkebaum E, Walmsley L E, Mitrophanous K A, Kingsman S M, Carmeliet P, Mazarakis N D: VEGF delivery with retrogradely transported lentivector prolongs survival in a mouse ALS model. *Nature* 429: 413-417 (2004)
- [10] Battistini S, Giannini F, Greco G, Bibbo G, Ferrera L, Marini V, Causarano R, Casula M, Lando G, Patrosso M C, Caponnetto C, Origone P, Marocchi A, Del Corona A, Siciliano G, Carrera P, Mascia V, Giagheddu M, Carcassi C, Orru S, Garre C, Penco S: SOD1 mutations in amyotrophic lateral sclerosis. Results from a multicenter Italian study. *J. Neurol.* 252: 782-788 (2005)

- [11] Bensimon G, Lacomblez L, Meininger V: A controlled trial of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. ALS/Riluzole Study Group. *N. Engl. J. Med.* 330: 585-591 (1994)
- [12] Boillee S, Vande Velde C, Cleveland D W: ALS: a disease of motor neurons and their nonneuronal neighbors. *Neuron* 52: 39-59 (2006)
- [13] Boillee S, Cleveland D W: Revisiting oxidative damage in ALS: microglia, Nox, and mutant SOD1. *J. Clin. Invest.* 118: 474-478 (2008)
- [14] Borthwick G M, Taylor R W, Walls T J, Tonska K, Taylor G A, Shaw P J, Ince P G, Turnbull D M: Motor neuron disease in a patient with a mitochondrial tRNA<sup>Ile</sup> mutation. *Ann. Neurol.* 59: 570-574 (2006)
- [15] Boukaftane Y, Khoris J, Moulard B, Salachas F, Meininger V, Malafosse A, Camu W, Rouleau G A: Identification of six novel SOD1 gene mutations in familial amyotrophic lateral sclerosis. *Can J Neurol Sci.* 25: 192-196 (1998)
- [16] Bowen B C, Pattany P M, Bradley W G, Murdoch J B, Rotta F, Younis A A, Duncan R C, Quencer R M: MR imaging and localized proton spectroscopy of the precentral gyrus in amyotrophic lateral sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol.* 21: 647-658 (2000)
- [17] Bradley W G, Anderson F, Bromberg M, Gutmann L, Harati Y, Ross M, Miller R G, ALS CARE Study G: Current management of ALS: comparison of the ALS CARE Database and the AAN Practice Parameter. *The American Academy of Neurology. Neurology* 57: 500-504 (2001)
- [18] Buratti E, Baralle F E: Multiple roles of TDP-43 in gene expression, splicing regulation, and human disease. *Front. Biosci.* 13: 867-878 (2008)
- [19] Butz M, Wollinsky K H, Wiedemuth-Catrinescu U, Sperfeld A, Winter S, Mehrkens H H, Ludolph A C, Schreiber H: Longitudinal effects of noninvasive positive-pressure ventilation in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Am J Phys Med Rehabil.* 82: 597-604 (2003)
- [20] Cairns N J, Neumann M, Bigio E H, Holm I E, Troost D, Hatanpaa K J, Foong C, White C L, 3rd, Schneider J A, Kretschmar H A, Carter D, Taylor-Reinwald L, Paulsmeyer K, Strider J, Gitcho M, Goate A M, Morris J C, Mishra M, Kwong L K, Stieber A, Xu Y, Forman M S, Trojanowski J Q, Lee V M, Mackenzie I R: TDP-43 in familial and sporadic frontotemporal lobar degeneration with ubiquitin inclusions. *Am. J. Pathol.* 171: 227-240 (2007)
- [21] Canete-Soler R, Schlaepfer W W: The complex relation between genotype and phenotype in motor neuron disease. *Ann. Neurol.* 62: 8-14 (2007)
- [22] Ceroni M, Malaspina A, Poloni T E, Alimonti D, Rognoni F, Habgood J, Imbesi F, Antonelli P, Alfonsi E, Curti D, deBellerocche J: Clustering of ALS patients in central Italy due to the occurrence of the L84F SOD1 gene mutation. *Neurology* 53: 1064-1071 (1999)
- [23] Chance P F, Rabin B A, Ryan S G, Ding Y, Scavina M, Crain B, Griffin J W, Cornblath D R: Linkage of the gene for an autosomal dominant form of juvenile amyotrophic lateral sclerosis to chromosome 9q34. *Am. J. Hum. Genet.* 62: 633-640 (1998)

- [24] Charcot J M, Joffroy A: *Deux cas d'atrophie musculaire progressive avec lésions de la substance grise et des faisceaux antérolatéraux de la moelle épinière*. Arch de Physiol Norm Pathol: 354-367 (1869)
- [25] Chen Y Z, Bennett C L, Huynh H M, Blair I P, Puls I, Irobi J, Dierick I, Abel A, Kennerson M L, Rabin B A, Nicholson G A, Auer-Grumbach M, Wagner K, De Jonghe P, Griffin J W, Fischbeck K H, Timmerman V, Cornblath D R, Chance P F: DNA/RNA helicase gene mutations in a form of juvenile amyotrophic lateral sclerosis (ALS4). Am. J. Hum. Genet. 74: 1128-1135 (2004)
- [26] Clark L N, Poorkaj P, Wszolek Z, Geschwind D H, Nasreddine Z S, Miller B, Li D, Payami H, Awert F, Markopoulou K, Andreadis A, D'Souza I, Lee V M, Reed L, Trojanowski J Q, Zhukareva V, Bird T, Schellenberg G, Wilhelmsen K C: Pathogenic implications of mutations in the tau gene in pallido-ponto-nigral degeneration and related neurodegenerative disorders linked to chromosome 17. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 95: 13103-13107 (1998)
- [27] Cleveland D W, Rothstein J D: From Charcot to Lou Gehrig: deciphering selective motor neuron death in ALS. Nat. Rev. Neurosci. 2: 806-819 (2001)
- [28] Comi G P, Bordoni A, Salani S, Franceschina L, Sciacco M, Prella A, Fortunato F, Zeviani M, Napoli L, Bresolin N, Moggio M, Ausenda C D, Taanman J W, Scarlato G: Cytochrome c oxidase subunit I microdeletion in a patient with motor neuron disease. Ann. Neurol. 43: 110-116 (1998)
- [29] Corrado L, Ratti A, Gellera C, Buratti E, Castellotti B, Carlomagno Y, Ticozzi N, Mazzini L, Testa L, Taroni F, Baralle F E, Silani V, D'Alfonso S: High frequency of TARDBP gene mutations in Italian patients with amyotrophic lateral sclerosis. Hum. Mutat. 30: 688-694 (2009)
- [30] Cudkovicz M E, McKenna-Yasek D, Sapp P E, Chin W, Geller B, Hayden D L, Schoenfeld D A, Hosler B A, Horvitz H R, Brown R H: Epidemiology of mutations in superoxide dismutase in amyotrophic lateral sclerosis. Ann. Neurol. 41: 210-221 (1997)
- [31] Curti D, Rognoni F, Alimonti D, Malaspina A, Feletti F, Tessera S, Finotti N, Rehak L, Mazzini L, Zerbi F, Poloni T E, Ceroni M: SOD1 activity and protective factors in familial ALS patients with L84F SOD1 mutation. Amyotroph Lateral Scler. Other Motor Neuron. Disord. 3: 115-122 (2002)
- [32] Daoud H, Valdmanis P N, Kabashi E, Dion P, Dupre N, Camu W, Meininger V, Rouleau G A: Contribution of TARDBP mutations to sporadic amyotrophic lateral sclerosis. J. Med. Genet. 46: 112-114 (2009)
- [33] Davenport R J, Swingler R J, Chancellor A M, Warlow C P: Avoiding false positive diagnoses of motor neuron disease: lessons from the Scottish Motor Neuron Disease Register. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 60: 147-151 (1996)
- [34] Deng H X, Hentati A, Tainer J A, Iqbal Z, Cayabyab A, Hung W Y, Getzoff E D, Hu P, Herzfeldt B, Roos R P: Amyotrophic lateral sclerosis and structural defects in Cu,Zn superoxide dismutase. Science 261: 1047-1051 (1993)

- [35] Fernandez-Santiago R, Sharma M, Mueller J C, Gohlke H, Illig T, Anneser J, Munch C, Ludolph A, Kamm C, Gasser T: Possible gender-dependent association of vascular endothelial growth factor (VEGF) gene and ALS. *Neurology* 66: 1929-1931 (2006)
- [36] Figlewicz D A, Orrell R W: The genetics of motor neuron diseases. *Amyotroph Lateral Scler. Other Motor Neuron. Disord.* 4: 225-231 (2003)
- [37] Forsheew D A, Bromberg M B: A survey of clinicians' practice in the symptomatic treatment of ALS. *Amyotroph Lateral Scler. Other Motor Neuron Disord.* 4: 258-263 (2003)
- [38] Garcia-Redondo A, Bustos F, Juan Y Seva B, Del Hoyo P, Jimenez S, Campos Y, Martin M A, Rubio J C, Canadillas F, Arenas J, Esteban J: Molecular analysis of the superoxide dismutase 1 gene in Spanish patients with sporadic or familial amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve* 26: 274-278 (2002)
- [39] Gaudette M, Hirano M, Siddique T: Current status of SOD1 mutations in familial amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler. Other Motor Neuron Disord.* 1: 83-89 (2000)
- [40] Gellera C: Genetics of ALS in Italian families. *Amyotroph Lateral Scler. Other Motor Neuron Disord.* 2: S43-6 (2001)
- [41] Gitcho M A, Baloh R H, Chakraverty S, Mayo K, Norton J B, Levitch D, Hatanpaa K J, White C L, 3rd, Bigio E H, Caselli R, Baker M, Al-Lozi M T, Morris J C, Pestronk A, Rademakers R, Goate A M, Cairns N J: TDP-43 A315T mutation in familial motor neuron disease. *Ann. Neurol.* 63: 535-538 (2008)
- [42] Graf M, Ecker D, Horowski R, Kramer B, Riederer P, Gerlach M, Hager C, Ludolph AC, Becker G, Osterhage J, Jost WH, Schrank B, Stein C, Kostopoulos P, Lubik S, Wekwerth K, Dengler R, Troeger M, Wuerz A, Hoge A, Schrader C, Schimke N, Krampfl K, Petri S, Zierz S, Eger K, Neudecker S, Traufeller K, Sievert M, Neundorfer B, Hecht M, German vitamin E/ALS Study Group: High dose vitamin E therapy in amyotrophic lateral sclerosis as add-on therapy to riluzole: results of a placebo-controlled double-blind study. *J. Neural Transm.* 112: 649-660 (2005)
- [43] Greenway M J, Andersen P M, Russ C, Ennis S, Cashman S, Donaghy C, Patterson V, Swingler R, Kieran D, Prehn J, Morrison K E, Green A, Acharya K R, Brown R H, Jr, Hardiman O: ANG mutations segregate with familial and 'sporadic' amyotrophic lateral sclerosis. *Nat. Genet.* 38: 411-413 (2006)
- [44] Guerreiro R J, Schymick J C, Crews C, Singleton A, Hardy J, Traynor B J: TDP-43 is not a common cause of sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS ONE* 3: e2450 (2008)
- [45] Gunnarsson L G, Lindberg G, Soderfelt B, Axelson O: The mortality of motor neuron disease in Sweden. *Arch. Neurol.* 47: 42-46 (1990)
- [46] Hadano S, Hand C K, Osuga H, Yanagisawa Y, Otomo A, Devon R S, Miyamoto N, Showguchi-Miyata J, Okada Y, Singaraja R, Figlewicz D A, Kwiatkowski T, Hosler B A, Sagie T, Skaug J, Nasir J, Brown R H, Jr, Scherer S W, Rouleau G A, Hayden M R, Ikeda J E: A gene encoding a putative GTPase regulator is mutated in familial amyotrophic lateral sclerosis 2. *Nat. Genet.* 29: 166-173 (2001)

- [47] Hand C K, Mayeux-Portas V, Khoris J, Briolotti V, Clavelou P, Camu W, Rouleau G A: Compound heterozygous D90A and D96N SOD1 mutations in a recessive amyotrophic lateral sclerosis family. *Ann. Neurol.* 49: 267-271 (2001)
- [48] Hand C K, Rouleau G A: Familial amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve* 25: 135-159 (2002)
- [49] Hentati A, Bejaoui K, Pericak-Vance M A, Hentati F, Speer M C, Hung W Y, Figlewicz D A, Haines J, Rimmler J, Ben Hamida C: Linkage of recessive familial amyotrophic lateral sclerosis to chromosome 2q33-q35. *Nat. Genet.* 7: 425-428 (1994)
- [50] Hosler B A, Siddique T, Sapp P C, Sailor W, Huang M C, Hossain A, Daube J R, Nance M, Fan C, Kaplan J, Hung W Y, McKenna-Yasek D, Haines J L, Pericak-Vance M A, Horvitz H R, Brown R H, Jr: Linkage of familial amyotrophic lateral sclerosis with frontotemporal dementia to chromosome 9q21-q22. *JAMA* 284: 1664-1669 (2000)
- [51] Hutton M, Lendon C L, Rizzu P, Baker M, Froelich S, Houlden H, Pickering-Brown S, Chakraverty S, Isaacs A, Grover A, Hackett J, Adamson J, Lincoln S, Dickson D, Davies P, Petersen R C, Stevens M, de Graaff E, Wauters E, van Baren J, Hillebrand M, Joosse M, Kwon J M, Nowotny P, Che L K, Norton J, Morris J C, Reed L A, Trojanowski J, Basun H, Lannfelt L, Neystat M, Fahn S, Dark F, Tannenberg T, Dodd P R, Hayward N, Kwok J B, Schofield P R, Andreadis A, Snowden J, Craufurd D, Neary D, Owen F, Oostra B A, Hardy J, Goate A, van Swieten J, Mann D, Lynch T, Heutink P: Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature* 393: 702-705 (1998)
- [52] Ikeda M, Abe K, Aoki M, Sahara M, Watanabe M, Shoji M, St George-Hyslop P H, Hirai S, Itoyama Y: Variable clinical symptoms in familial amyotrophic lateral sclerosis with a novel point mutation in the Cu/Zn superoxide dismutase gene. *Neurology* 45: 2038-2042 (1995)
- [53] Jackson M, Al-Chalabi A, Enayat Z E, Chioza B, Leigh P N, Morrison K E: Copper/zinc superoxide dismutase 1 and sporadic amyotrophic lateral sclerosis: analysis of 155 cases and identification of a novel insertion mutation. *Ann. Neurol.* 42: 803-807 (1997)
- [54] Janknecht R: EWS-ETS oncoproteins: the linchpins of Ewing tumors. *Gene* 363: 1-14 (2005)
- [55] Jones C T, Swingler R J, Simpson S A, Brock D J: Superoxide dismutase mutations in an unselected cohort of Scottish amyotrophic lateral sclerosis patients. *J. Med. Genet.* 32: 290-292 (1995)
- [56] Jonsson P A, Backstrand A, Andersen P M, Jacobsson J, Parton M, Shaw C, Swingler R, Shaw P J, Robberecht W, Ludolph A C, Siddique T, Skvortsova V I, Marklund S L: CuZn-superoxide dismutase in D90A heterozygotes from recessive and dominant ALS pedigrees. *Neurobiol. Dis.* 10: 327-333 (2002)
- [57] Kabashi E, Valdmanis P N, Dion P, Spiegelman D, McConkey B J, Vande Velde C, Bouchard J P, Lacomblez L, Pochigaeva K, Salachas F, Pradat P F, Camu W, Meininger V, Dupre N, Rouleau G A: TARDBP mutations in individuals with sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nat. Genet.* 40: 572-574 (2008)

- [58] Kahana E, Zilber N: Changes in the incidence of amyotrophic lateral sclerosis in Israel. *Arch. Neurol.* 41: 157-160 (1984)
- [59] Kamel F, Umbach D M, Munsat T L, Shefner J M, Sandler D P: Association of cigarette smoking with amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroepidemiology* 18: 194-202 (1999)
- [60] Klein B, Weirich G, Brauch H: DHPLC-based germline mutation screening in the analysis of the VHL tumor suppressor gene: usefulness and limitations. *Hum. Genet.* 108: 376-384 (2001)
- [61] Kostrzewa M, Burck-Lehmann U, Muller U: Autosomal dominant amyotrophic lateral sclerosis: a novel mutation in the Cu/Zn superoxide dismutase-1 gene. *Hum. Mol. Genet.* 3: 2261-2262 (1994)
- [62] Kostrzewa M, Damian M S, Muller U: Superoxide dismutase 1: identification of a novel mutation in a case of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Hum. Genet.* 98: 48-50 (1996)
- [63] Kuhnlein P, Sperfeld A D, Vanmassenhove B, Van Deerlin V, Lee V M, Trojanowski J Q, Kretzschmar H A, Ludolph A C, Neumann M: Two German kindreds with familial amyotrophic lateral sclerosis due to TARDBP mutations. *Arch. Neurol.* 65: 1185-1189 (2008)
- [64] Kwiatkowski T J, Jr, Bosco D A, Leclerc A L, Tamrazian E, Vanderburg C R, Russ C, Davis A, Gilchrist J, Kasarskis E J, Munsat T, Valdmanis P, Rouleau G A, Hosler B A, Cortelli P, de Jong P J, Yoshinaga Y, Haines J L, Pericak-Vance M A, Yan J, Ticozzi N, Siddique T, McKenna-Yasek D, Sapp P C, Horvitz H R, Landers J E, Brown R H, Jr: Mutations in the FUS/TLS gene on chromosome 16 cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 323: 1205-1208 (2009)
- [65] Lagier-Tourenne C, Cleveland D W: Rethinking ALS: the FUS about TDP-43. *Cell* 136: 1001-1004 (2009)
- [66] Lambrechts D, Storkebaum E, Morimoto M, Del-Favero J, Desmet F, Marklund S L, Wyns S, Thijs V, Andersson J, van Marion I, Al-Chalabi A, Bornes S, Musson R, Hansen V, Beckman L, Adolfsson R, Pall H S, Prats H, Vermeire S, Rutgeerts P, Katayama S, Awata T, Leigh N, Lang-Lazdunski L, Dewerchin M, Shaw C, Moons L, Vlietinck R, Morrison K E, Robberecht W, Van Broeckhoven C, Collen D, Andersen P M, Carmeliet P: VEGF is a modifier of amyotrophic lateral sclerosis in mice and humans and protects motoneurons against ischemic death. *Nat. Genet.* 34: 383-394 (2003)
- [67] Lambrechts D, Poesen K, Fernandez-Santiago R, Al-Chalabi A, Del Bo R, Van Vught P W, Khan S, Marklund S, Brockington A, Van Marion I, Anneser J, Shaw C, Ludolph A, Leigh N, Comi G, Gasser T, Shaw P J, Morrison K, Andersen P, Van den Berg L H, Thijs V, Siddique T, Robberecht W, Carmeliet P: Meta-analysis of VEGF variations in ALS: increased susceptibility in male carriers of the -2578AA genotype. *J. Med. Genet.* (2008)
- [68] Lindberg M J, Tibell L, Oliveberg M: Common denominator of Cu/Zn superoxide dismutase mutants associated with amyotrophic lateral sclerosis: decreased stability of the apo state. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99: 16607-16612 (2002)
- [69] Liu J, Lillo C, Jonsson P A, Vande Velde C, Ward C M, Miller T M, Subramaniam J R, Rothstein J D, Marklund S, Andersen P M, Brannstrom T, Gredal O, Wong P C, Williams D

S, Cleveland D W: Toxicity of familial ALS-linked SOD1 mutants from selective recruitment to spinal mitochondria. *Neuron* 43: 5-17 (2004)

[70] Logroscino G, Traynor B J, Hardiman O, Chio' A, Couratier P, Mitchell J D, Swingler R J, Beghi E, Eurals: Descriptive epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: new evidence and unsolved issues. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 79: 6-11 (2008)

[71] Mackenzie I R, Bigio E H, Ince P G, Geser F, Neumann M, Cairns N J, Kwong L K, Forman M S, Ravits J, Stewart H, Eisen A, McClusky L, Kretzschmar H A, Monoranu C M, Highley J R, Kirby J, Siddique T, Shaw P J, Lee V M, Trojanowski J Q: Pathological TDP-43 distinguishes sporadic amyotrophic lateral sclerosis from amyotrophic lateral sclerosis with SOD1 mutations. *Ann. Neurol.* 61: 427-434 (2007)

[72] Matias-Guiu J, Garcia-Ramos G, Galan L, Vela A, Guerrero A: [Analytic epidemiological information of amyotrophic lateral sclerosis]. *Neurologia* 23: 168-178 (2008)

[73] McGuire V, Longstreth W T, Jr, Koepsell T D, van Belle G: Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in three counties in western Washington state. *Neurology* 47: 571-573 (1996)

[74] Miller R G, Mitchell J D, Lyon M, Moore D H: Riluzole for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/motor neuron disease (MND). *Amyotroph Lateral Scler. Other Motor Neuron Disord.* 4: 191-206 (2003)

[75] Mitsumoto H, Davidson M, Moore D, Gad N, Brandis M, Ringel S, Rosenfeld J, Shefner J M, Strong M J, Sufit R, Anderson F A, ALS CARE Study G: Percutaneous endoscopic gastrostomy (PEG) in patients with ALS and bulbar dysfunction. *Amyotroph Lateral Scler. Other Motor Neuron Disord.* 4: 177-185 (2003)

[76] Moore S R, Gresham L S, Bromberg M B, Kasarkis E J, Smith R A: A self report measure of affective lability. *J Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 63: 89-93 (1997)

[77] Neilson S, Gunnarsson L G, Robinson I: Rising mortality from motor neurone disease in Sweden 1961-1990: the relative role of increased population life expectancy and environmental factors. *Acta Neurol. Scand.* 90: 150-159 (1994)

[78] Neilson S, Robinson I, Nymoene E H: Longitudinal analysis of amyotrophic lateral sclerosis mortality in Norway, 1966-1989: evidence for a susceptible subpopulation. *J. Neurol. Sci.* 122: 148-154 (1994)

[79] Nelson L M, McGuire V, Longstreth W T, Jr, Matkin C: Population-based case-control study of amyotrophic lateral sclerosis in western Washington State. I. Cigarette smoking and alcohol consumption. *Am. J. Epidemiol.* 151: 156-163 (2000)

[80] Neumann M, Sampathu D M, Kwong L K, Truax A C, Micsenyi M C, Chou T T, Bruce J, Schuck T, Grossman M, Clark C M, McCluskey L F, Miller B L, Masliah E, Mackenzie I R, Feldman H, Feiden W, Kretzschmar H A, Trojanowski J Q, Lee V M: Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 314: 130-133 (2006)

- [81] Neumann M, Kwong L K, Sampathu D M, Trojanowski J Q, Lee V M: TDP-43 proteinopathy in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis: protein misfolding diseases without amyloidosis. *Arch. Neurol.* 64: 1388-1394 (2007)
- [82] Niemann S, Joos H, Meyer T, Vielhaber S, Reuner U, Gleichmann M, Dengler R, Muller U: Familial ALS in Germany: origin of the R115G SOD1 mutation by a founder effect. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 75: 1186-1188 (2004)
- [83] Nishimura A L, Mitne-Neto M, Silva H C, Richieri-Costa A, Middleton S, Cascio D, Kok F, Oliveira J R, Gillingwater T, Webb J, Skehel P, Zatz M: A mutation in the vesicle-trafficking protein VAPB causes late-onset spinal muscular atrophy and amyotrophic lateral sclerosis. *Am. J. Hum. Genet.* 75: 822-831 (2004)
- [84] Oosthuysen B, Moons L, Storkebaum E, Beck H, Nuyens D, Brusselmans K, Van Dorpe J, Hellings P, Gorselink M, Heymans S, Theilmeyer G, Dewerchin M, Laudenbach V, Vermynen P, Raat H, Acker T, Vleminckx V, Van Den Bosch L, Cashman N, Fujisawa H, Drost M R, Sciot R, Bruyninckx F, Hicklin D J, Ince C, Gressens P, Lupu F, Plate K H, Robberecht W, Herbert J M, Collen D, Carmeliet P: Deletion of the hypoxia-response element in the vascular endothelial growth factor promoter causes motor neuron degeneration. *Nat. Genet.* 28: 131-138 (2001)
- [85] Orrell R W, Habgood J J, Gardiner I, King A W, Bowe F A, Hallewell R A, Marklund S L, Greenwood J, Lane R J, deBellerocche J: Clinical and functional investigation of 10 missense mutations and a novel frameshift insertion mutation of the gene for copper-zinc superoxide dismutase in UK families with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 48: 746-751 (1997)
- [86] Ostojic J, Axelman K, Lannfelt L, Froelich-Fabre S: No evidence of linkage to chromosome 9q21-22 in a Swedish family with frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis. *Neurosci. Lett.* 340: 245-247 (2003)
- [87] Parton M J, Broom W, Andersen P M, Al-Chalabi A, Nigel Leigh P, Powell J F, Shaw C E, D90A SOD1 ALS Consortium: D90A-SOD1 mediated amyotrophic lateral sclerosis: a single founder for all cases with evidence for a Cis-acting disease modifier in the recessive haplotype. *Hum. Mutat.* 20: 473 (2002)
- [88] Pasinelli P, Belford M E, Lennon N, Bacsikai B J, Hyman B T, Trotti D, Brown R H, Jr: Amyotrophic lateral sclerosis-associated SOD1 mutant proteins bind and aggregate with Bcl-2 in spinal cord mitochondria. *Neuron* 43: 19-30 (2004)
- [89] Pasinelli P, Brown R H: Molecular biology of amyotrophic lateral sclerosis: insights from genetics. *Nat Rev Neurosci.* 7: 710-723 (2006)
- [90] Prober J M, Trainor G L, Dam R J, Hobbs F W, Robertson C W, Zagursky R J, Cocuzza A J, Jensen M A, Baumeister K: A system for rapid DNA sequencing with fluorescent chain-terminating dideoxynucleotides. *Science* 238: 336-341 (1987)
- [91] Puls I, Jonnakuty C, LaMonte B H, Holzbaur E L, Tokito M, Mann E, Floeter M K, Bidus K, Drayna D, Oh S J, Brown R H, Jr, Ludlow C L, Fischbeck K H: Mutant dynactin in motor neuron disease. *Nat. Genet.* 33: 455-456 (2003)

- [92] Reaume A G, Elliott J L, Hoffman E K, Kowall N W, Ferrante R J, Siwek D F, Wilcox H M, Flood D G, Beal M F, Brown R H, Jr, Scott R W, Snider W D: Motor neurons in Cu/Zn superoxide dismutase-deficient mice develop normally but exhibit enhanced cell death after axonal injury. *Nat. Genet.* 13: 43-47 (1996)
- [93] Rezania K, Yan J, Dellefave L, Deng H X, Siddique N, Pascuzzi R T, Siddique T, Roos R P: A rare Cu/Zn superoxide dismutase mutation causing familial amyotrophic lateral sclerosis with variable age of onset, incomplete penetrance and a sensory neuropathy. *Amyotroph Lateral Scler. Other Motor Neuron Disord.* 4: 162-166 (2003)
- [94] Robertson J, Sanelli T, Xiao S, Yang W, Horne P, Hammond R, Piroo E P, Strong M J: Lack of TDP-43 abnormalities in mutant SOD1 transgenic mice shows disparity with ALS. *Neurosci. Lett.* 420: 128-132 (2007)
- [95] Rosen D R: Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 364: 362 (1993)
- [96] Ruddy D M, Parton M J, Al-Chalabi A, Lewis C M, Vance C, Smith B N, Leigh P N, Powell J F, Siddique T, Meyjes E P, Baas F, de Jong V, Shaw C E: Two families with familial amyotrophic lateral sclerosis are linked to a novel locus on chromosome 16q. *Am. J. Hum. Genet.* 73: 390-396 (2003)
- [97] Sancho J, Servera E, Vergara P, Marin J: Mechanical insufflation-exsufflation vs. tracheal suctioning via tracheostomy tubes for patients with amyotrophic lateral sclerosis: a pilot study. *Am J Phys Med Rehabil.* 82: 750-753 (2003)
- [98] Sanger F, Nicklen S, Coulson A R: DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. 1977. *Biotechnology* 24: 104-108 (1992)
- [99] Sapp P C, Hosler B A, McKenna-Yasek D, Chin W, Gann A, Genise H, Gorenstein J, Huang M, Sailer W, Scheffler M, Valesky M, Haines J L, Pericak-Vance M, Siddique T, Horvitz H R, Brown R H, Jr: Identification of two novel loci for dominantly inherited familial amyotrophic lateral sclerosis. *Am. J. Hum. Genet.* 73: 397-403 (2003)
- [100] Shaw C E, Enayat Z E, Chioza B A, Al-Chalabi A, Radunovic A, Powell J F, Leigh P N: Mutations in all five exons of SOD-1 may cause ALS. *Ann. Neurol.* 43: 390-394 (1998)
- [101] Siddique T, Figlewicz D A, Pericak-Vance M A, Haines J L, Rouleau G, Jeffers A J, Sapp P, Hung W Y, Bebout J, McKenna-Yasek D: Linkage of a gene causing familial amyotrophic lateral sclerosis to chromosome 21 and evidence of genetic-locus heterogeneity. *N. Engl. J. Med.* 324: 1381-1384 (1991)
- [102] Siddique T, Nijhawan D, Hentati A: Molecular genetic basis of familial ALS. *Neurology* 47: S27-34 (1996)
- [103] Sorenson E J, Stalker A P, Kurland L T, Windebank A J: Amyotrophic lateral sclerosis in Olmsted County, Minnesota, 1925 to 1998. *Neurology* 59: 280-282 (2002)
- [104] Sperfeld A -, Kassubek J, Ludolph A C: Aktuelle Aspekte in der Diagnostik und Therapie der Amyotrophen Laterasklerose. *Akt Neurol* 31: 1-7 (2004)

- [105] Sreedharan J, Blair I P, Tripathi V B, Hu X, Vance C, Rogelj B, Ackerley S, Durnall J C, Williams K L, Buratti E, Baralle F, de Bellerocche J, Mitchell J D, Leigh P N, Al-Chalabi A, Miller C C, Nicholson G, Shaw C E: TDP-43 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 319: 1668-1672 (2008)
- [106] Storkebaum E, Lambrechts D, Dewerchin M, Moreno-Murciano M P, Appelmans S, Oh H, Van Damme P, Rutten B, Man W Y, De Mol M, Wyns S, Manka D, Vermeulen K, Van Den Bosch L, Mertens N, Schmitz C, Robberecht W, Conway E M, Collen D, Moons L, Carmeliet P: Treatment of motoneuron degeneration by intracerebroventricular delivery of VEGF in a rat model of ALS. *Nat. Neurosci.* 8: 85-92 (2005)
- [107] Tovar-Y-Romo L B, Zepeda A, Tapia R: Vascular endothelial growth factor prevents paralysis and motoneuron death in a rat model of excitotoxic spinal cord neurodegeneration. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 66: 913-922 (2007)
- [108] Valentine J S, Doucette P A, Zittin Potter S: Copper-zinc superoxide dismutase and amyotrophic lateral sclerosis. *Annu. Rev. Biochem.* 74: 563-593 (2005)
- [109] Van Deerlin V M, Leverenz J B, Bekris L M, Bird T D, Yuan W, Elman L B, Clay D, Wood E M, Chen-Plotkin A S, Martinez-Lage M, Steinbart E, McCluskey L, Grossman M, Neumann M, Wu I L, Yang W S, Kalb R, Galasko D R, Montine T J, Trojanowski J Q, Lee V M, Schellenberg G D, Yu C E: TARDBP mutations in amyotrophic lateral sclerosis with TDP-43 neuropathology: a genetic and histopathological analysis. *Lancet Neurol.* 7: 409-416 (2008)
- [110] Vance C, Rogelj B, Hortobagyi T, De Vos K J, Nishimura A L, Sreedharan J, Hu X, Smith B, Ruddy D, Wright P, Ganesalingam J, Williams K L, Tripathi V, Al-Saraj S, Al-Chalabi A, Leigh P N, Blair I P, Nicholson G, de Bellerocche J, Gallo J M, Miller C C, Shaw C E: Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6. *Science* 323: 1208-1211 (2009)
- [111] Visser J, de Jong J M, de Visser M: The history of progressive muscular atrophy: syndrome or disease? *Neurology* 70: 723-727 (2008)
- [112] Yamanaka K, Miller T M, McAlonis-Downes M, Chun S J, Cleveland D W: Progressive spinal axonal degeneration and slowness in ALS2-deficient mice. *Ann. Neurol.* 60: 95-104 (2006)
- [113] Yang Y, Hentati A, Deng H X, Dabbagh O, Sasaki T, Hirano M, Hung W Y, Ouahchi K, Yan J, Azim A C, Cole N, Gascon G, Yagmour A, Ben-Hamida M, Pericak-Vance M, Hentati F, Siddique T: The gene encoding alsin, a protein with three guanine-nucleotide exchange factor domains, is mutated in a form of recessive amyotrophic lateral sclerosis. *Nat. Genet.* 29: 160-165 (2001)
- [114] Zheng C, Nennesmo I, Fadeel B, Henter J I: Vascular endothelial growth factor prolongs survival in a transgenic mouse model of ALS. *Ann. Neurol.* 56: 564-567 (2004)

## 7. Danksagung

Ich möchte mich ganz herzlich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. A. C. Ludolph für die Ermöglichung dieser Arbeit bedanken. Ich bedanke mich für sein Vertrauen in meine Fähigkeit, die gute Betreuung und stetige Erreichbarkeit und das offene Ohr für alle anfallenden Fragen und Probleme sowie Anregungen zur Verbesserung und Erweiterung meiner Arbeit. Ihm verdanke ich die Fertigstellung dieser Arbeit. Während der gesamten Zeit habe ich mich sehr gut betreut gefühlt und großen Gefallen an der Neurologie gefunden.

Des Weiteren möchte ich mich bei meinem Betreuer Dr. med A. Felbecker bedanken. Er war mir bis zum Schluss eine große Hilfe und Stütze bei dieser Arbeit. Durch seine sehr gute Betreuung und Hilfe konnte die Arbeit seine heutige Form annehmen. Er war mir während der gesamten Zeit ein sehr wichtiger Ansprechpartner, der mir half, auch in schwierigen Phasen nicht zu verzweifeln und nach vorne zu schauen. Gerade in der Anfangsphase war mir seine Unterstützung und Zuversicht von sehr großer Hilfe.

Prof. Dr. rer. nat. Steinbach danke ich für die Durchführung der SOD1-Diagnostik und der Mitteilung der Ergebnisse.

Auch Dr. S. Waibel und Dr. C. Hendrich möchte ich für Ihre Unterstützung danken. Sie halfen mir bei vielen Problemen und Fragen. Jederzeit konnte ich mich an sie wenden.

Die Sekretärinnen der Neurologischen Ambulanz, Frau Agrawal und Frau Pirch sind mir bei vielen organisatorischen Fragen stets zur Seite gestanden. Sie waren mir eine große Hilfe bei der Aktenrecherche und Zusammentragung der Daten.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie. Meinen Eltern, die mir das Medizinstudium überhaupt erst ermöglicht haben und mich stets uneingeschränkt unterstützten und meinen beiden Schwestern, die mir eine große Hilfe und Bereicherung sind.

Roland Schneiderbauer danke ich für seine Geduld, seine aufmunternden und zuversichtlichen Worte und seinen uneingeschränkten Rückhalt in allen Lebenslagen.